

ÄNDERUNGEN DER POSTSYNAPTISCHEN
INHIBITION BEI KRAMPFINDUZIERENDEN
STOFFWECHSELSITUATIONEN

CLEMENS LORACHER

1971



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553801_0033

Aus dem Max-Planck-Institut für Psychiatrie

Direktor (Vorstand): Prof. Dr. G. Peters

Änderungen der postsynaptischen Inhibition bei krampfinduzierenden Stoffwechselsituationen.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Clemens Loracher

aus

München

1 9 7 1

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität
München

Berichterstatter:	Priv.-Doz. Dr. ten Bruggencate
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. K. Kramer
Dekan:	Prof. Dr. W. Spann
Tag der mündlichen Prüfung:	5.10.1971



Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. H.D. Lux, der durch seine ständige Unterstützung und Beratung die Durchführung der Arbeit ermöglichte. Herrn Dr. E. Neher möchte ich für seine Hilfe danken. Herrn Priv. Doz. Dr. G. ten Bruggencate und Herrn Prof. Dr. K. Kramer danke ich für ihr Interesse an der Arbeit.

Inhaltsverzeichnis

I. Das cerebrale Anfallsgeschehen als unspezifische Reaktion des Zentralnervensystems.	1
II. Allgemeine Aspekte experimentell erzeugter, zentralnervöser Krämpfe.	3
III. Problemstellung: Metabolisch induzierte Krampfstände.	8
IV. Methodik	16
V. Ergebnisse	24
VI. Diskussion	35

Zusammenfassung

Literaturverzeichnis

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

AP	Aktionspotential
ATP	Adenosintriphosphat
CP	Creatinphosphat
EMK	Elektromotorische Kraft
E _{IPSP}	Gleichgewichtspotential des IPSP
EPSP	Excitatorisches postsynaptisches Potential
FAc	Fluoracetat
FFA	Fluorfettsäure
GABA	Gamma-Aminobuttersäure
GAD	Glutamatdecarboxylase
IPSP	Inhibitorisches postsynaptisches Potential
AKG	Alpha-Ketoglutarat
MP	Membranpotential
NPN	Nicht proteingebundener Stickstoff
PTZ	Pentylentetrazol
RP	Membranruhepotential
TEPP	Tetraäthylpyrophosphat

I. Das cerebrale Anfallsgeschehen als unspezifische Reaktion des Zentralnervensystems.

Der zentralnervöse Krampf ist gekennzeichnet durch spontane, synchronisierte, generalisiert oder fokal auftretende Nervenzell-Entladungen (Tower, D.B. 1960), die durch entsprechende elektro-encephalographische Registrierungen erfaßt werden und eine charakteristische klinische Symptomatik hervorrufen.

Dieses Krankheitsbild wird durch die mannigfachsten Noxen hervorgerufen. Cerebrale Anfälle werden, wenn auch nicht immer, beobachtet bei:

Traumen, Entzündungen, Neoplasien des Zentralnervensystems
Durchblutungsstörungen (Adam Stoke'scher Anfall, hypertensiver Encephalopathie z.B. bei: maligner Hypertonie, akuter Glomerulonephritis, Eklampsie)

Hypoxie, Hypoglycaemie, Pyridoxalmangel

Genetisch bedingten Stoffwechselstörungen (Phenylketonurie, Dysfunktionen des Ornithincyclus, Hyperlysinaemie, Galaktosaemie, Lipoidosen etc.)

Intoxikationen (CN^- , Pb^{2+} , Fluorfettsäuren, Vit. B 6 Antagonisten)

Schweren Hepatopathien

Endokrinen Störungen (akuter Hyperparathyreoidismus, Hypoparathyreoidismus u.a.)

Genetisch bedingten Anfallsleiden ohne bekannte Stoffwechselstörung

Dieses breite Spektrum möglicher Auslöser cerebraler Anfälle zeigt deutlich den unspezifischen Charakter von Krämpfen als relativ

uniforme Reaktionsform des ZNS auf die mannigfachen schädigenden Einwirkungen. D.h. jedes Gehirn kann mit einem Krampfanfall antworten, ein entsprechend gearteter und intensiver Reiz vorausgesetzt. Die Aktivität des gesunden Gehirns kehrt jedoch nach Absetzen des Reizes in die Ausgangslage zurück. Treten jedoch Krämpfe spontan und chronisch rezidivierend auf (gleichgültig ob ihre Ursache bekannt oder unbekannt ist), so bezeichnen wir dieses Erscheinungsbild als Epilepsie (Chavany, J. 1958; Tower, D.B. 1960). Epilepsie stellt also keine nosologische Einheit, sondern die Charakterisierung verschiedenartigster, teils bekannter, teils unbekannter Stoffwechselentgleisungen durch das ihnen allen gemeinsame und zugleich auffallendste Merkmal, nämlich den chronisch rezidivierenden Krampf, dar.

Da nun jeder Lebensvorgang und deshalb auch der Krampfanfall in irgendeiner Weise durch einen biophysikalisch - biochemischen Vorgang bedingt ist, liegt es nahe, nach einer gemeinsamen Endreaktion im ZNS zu suchen, deren Folge der cerebrale Krampf, deren Ursache jedoch die unterschiedlichsten pathogenen Bedingungen sein können.

Angesichts der beachtlichen medizinischen und sozialen Bedeutung von ZNS-Krämpfen (in der BRD leiden 0,4 - 0,8 %, in den USA 1 % der Gesamtbevölkerung an Epilepsie), ist es für die experimentelle Medizin von entscheidender Wichtigkeit, adäquate tierexperimentelle Modelle zum Studium cerebraler Anfälle zu entwickeln, die dabei auftretenden elektrophysiologischen und metabolischen Alterationen aufzudecken und zu korrelieren und so eventuell neue Wege für die Verbesserung der Therapie aufzuzeigen.

II. Allgemeine Aspekte experimentell erzeugter, zentralnervöser Krämpfe.

Um physiologische Muster neuronaler Aktivität aufrecht zu erhalten, ist ein dynamisches Gleichgewicht zwischen Erregungsförderung und Erregungshemmung unabdingbare Voraussetzung (Esplin, D.W. et B. Zablocka-Esplin 1969). Jede Auslenkung dieses Gleichgewichts wird entweder in einer Depression oder einer anfallsartigen Entladung von Nervenzellverbänden resultieren. Anfallsartige Aktivität ist die Folge verminderter oder blockierter Hemmung oder gesteigerter Aktivierung neuronaler Elemente oder beider Grundmechanismen (Eccles, J.C. 1969; Esplin, D.W. 1969). Jeder der beiden Grundmechanismen kann nun auf unterschiedliche Art und Weise zustande kommen:

I. Verstärkte Aktivierung durch:

1. Vermehrte Bereitstellung aktivierender Transmitter
2. Verstärkte Freisetzung aktivierender Transmitter
3. Verlängerte Wirkungsdauer aktivierender Transmitter
4. Veränderungen der Eigenschaften der postsynaptischen Membran (einschließlich der nichtjunktionalen Membran), die die Wirkung des excitatorischen Transmitters verstärken

II. Verminderte Hemmung durch:

- a) 1. Verminderte Bereitstellung hemmender Transmitter
2. Verminderte Freisetzung hemmender Transmitter
3. Blockade des postsynaptischen Rezeptors für hemmende Transmitter
4. Veränderungen der Eigenschaften der postsynaptischen Membran, die die Wirksamkeit hemmender Transmitter reduzieren

- b) Eine verminderte präsynaptische Hemmung (Eccles, J.C. 1969), deren Schwerpunkt allerdings peripher liegt (Eccles, J.C. 1969) (entspräche einer verminderten Freisetzung eines noch hypothetischen aktivierenden, präsynaptisch depolarisierenden Transmitters).

Die Vielzahl krampfinduzierender Substanzen läßt sich, mit einigen Ausnahmen, nicht in dieses, auf membranphysiologischen Überlegungen basierende, Einteilungsschema einordnen. Dennoch muß daran festgehalten werden, daß jede neuronale Krampfaktivität letztlich über einen oder mehrere der oben genannten Mechanismen führen muß.

So läßt sich z.B. die krampfauslösende Wirkung von Anticholinesterasen (z.B. Tetraäthylpyrophosphat = TEPP) über den unter I3 genannten Wirkungsmechanismus erklären, da Acetylcholin an zentralen Synapsen die Funktion eines erregenden Transmitters erfüllt (Burgen, A.S.V. et F.C. Mac Intosh 1955). Untermuert wird diese Interpretation durch die Unterdrückbarkeit TEPP induzierter Krämpfe durch Atropin und Hyoscin (Stone, W.E. 1969), welche bekanntlich Antagonisten von Acetylcholin an bestimmten Typen von Synapsen sind.

Pentylentetrazol (PTZ) scheint über mehrere der unter I genannten Mechanismen zu wirken (Esplin, D.W. et B. Zablocka-Esplin 1969). Der exakte Mechanismus ist unbekannt, jedoch deuten die unspezifischen Änderungen des cerebralen Metabolismus (Stone, W.E. et al. 1960; Tews, J.K. et W.E. Stone 1965) auf einen primären Wirkungsort an der neuralen Membran hin, während die

Stoffwechseländerungen Folge der erhöhten neuronalen Aktivität; nicht aber deren Ursache sind (Tews, J.K. et W.E. Stone 1965).

Für die convulsive Wirkung von bestimmten Barbituraten wird eine vermehrte Freisetzung von erregendem Transmitter diskutiert (Esplin, D.W. et B. Zablocka-Esplin 1969).

Dem unter II a 1 genannten Typus der Krampfaktivität entsprechen die durch Vitamin B 6 Antagonisten (Thiosemicarbazid, Hydrazine u.a.) induzierten Krämpfe. Die Biosynthese von Gamma - Aminobuttersäure (GABA), der mit sehr großer Wahrscheinlichkeit die Rolle eines zentral wirksamen, inhibitorischen Transmitters zukommt (Roberts, E. et E. Eidelberg 1960), ist durch die außerordentlich lockere Bindung des B 6 Coenzym an die Glutamatdecarboxylase (GAD), dem Schlüsselenzym der GABA Synthese, sehr empfindlich gegenüber Vitamin B 6 Mangel bzw. gegenüber B 6 Antagonisten, während andere B 6 abhängige Enzyme des GABA Katabolismus durch feste Bindung von Vitamin B 6 noch keine signifikante Aktivitätsminderung zeigen (Roberts, E. et E. Eidelberg 1960).

In die Gruppe der unter II 3 genannten Mechanismen gehören Krampfgifte wie Strychnin und Bicucullin. Strychnin blockiert kompetitiv (?) den postsynaptischen Rezeptor für einen spinalen, inhibitorischen Transmitter (Glycin?) (Roper, S. et J. Diamond 1969), während die corticale postsynaptische Inhibition (GABA Transmitter?) sich als

strychninresistent erweist (Curtis, D.R. et al. 1970).

Ein komplementäres Wirkungsspektrum zeigt Bicucullin, das corticale, inhibitorische Synapsen blockiert, während es am Rückenmark keine oder nur geringe Wirkung zeigt (Curtis, D.R. et al. 1970).

Was nun die pathophysiologische Bedeutung dieser Krampfmodelle betrifft, so scheint es nicht wahrscheinlich, daß einem von ihnen größere klinische Relevanz zukommt:

Von Intoxikationen mit Cholinesterase-Inhibitoren (z.B. TEPP) abgesehen, wird bei Krampfanfällen regelmäßig ein verminderter Acetylcholin Spiegel (bei gleichzeitig erhöhtem Umsatz) im Gehirn gefunden (Stone, W.E. 1969), was die Bedeutung einer verminderten Hydrolyse von Acetylcholin als entscheidenden Mechanismus in der Pathogenese cerebraler Anfälle ausschließt. Das TEPP Modell scheint demnach nicht geeignet zum Studium elektrophysiologischer und biochemischer Veränderungen in der Entstehung des Krampfes, als vielmehr zum Studium der Folgen neuronaler Aktivität auf neurochemischer und neurophysiologischer Ebene.

Der potentielle Wirkungsmechanismus convulsiver Barbiturate, ebenso wie der von PTZ, ist zu spekulativ (Esplin, D.W. et B. Zablocka-Esplin 1969), als daß zum gegenwärtigen Zeitpunkt präzise Angaben über eine eventuell pathophysiologische Bedeutung gemacht werden könnten.

Den unter II a 1 genannten Krampfgiften entspricht ein klinisches Äquivalent: Die Vitamin B 6 Abhängigkeit, ein

Stoffwechseldefekt der durch seinen enorm hohen Verbrauch an Vitamin B 6 gekennzeichnet ist (Tower, D.B. 1960). Die klinische Bedeutung ist durch die außerordentliche Seltenheit des Krankheitsbildes nicht allzu groß, außerdem zeigte sich, daß die ganz überwiegende Mehrzahl cerebraler Anfallsleiden durch B 6 Gaben keine Besserung erfuhren (Tower, D.B. 1960).

Der Strychnin induzierte Krampf (als ausgesprochener spinaler Krampf) stellt schon allein von seiner Symptomatik (tonischer Extensorenkrampf) her einen Sonderfall dar und kann deshalb wohl kaum als experimentelles Äquivalent klinischer Krankheitsbilder gelten (Esplin, D.W. et B. Zablocka, Esplin 1969).

III. Problemstellung: Metabolisch induzierte Krampfstörungen:

Im Gegensatz zu den eben besprochenen Substanzen läßt sich für eine ganze Reihe von außerordentlich wirksamen Krampfgiften aus den zum gegenwärtigen Zeitpunkt vorhandenen elektrophysiologischen Daten kein befriedigendes neurophysiologisches Modell ihrer krampf-induzierenden Wirkung ableiten. Gemeinsam ist dieser Gruppe von Agentien, die sich sowohl in ihrer chemischen Konstitution, als auch in ihrem metabolischen Angriffspunkt oft grundsätzlich unterscheiden, die Ähnlichkeit der Krampfaktivität im EEG Muster mit EEG Mustern humaner Grand Mal Aktivität (Peters, E.L. et D.B. Tower 1959; Stone, W.E. et al. 1960; Tews, J.K. et W.E. Stone 1965; Gastaut, H. et al. 1968 a + b) sowie tiefgreifende Änderungen des cerebralen Metabolismus bereits in der präconvulsiven Phase (Stone, W.E. et al. 1960; Tower, D.B. 1963; Tews, J.K. et W.E. Stone 1965; Folbergrova, J. et al. 1969).

Als besonders charakteristische Vertreter dieser Gruppe seien Ammoniumsalze, Fluorfettsäuren und der hypoglycaemische Krampf kurz besprochen.

Ammoniumsalze:

1923 beschrieb Trendelenburg als erster durch Ammoniumsalze provozierte Krämpfe (Trendelenburg, P. 1923). Die augenfälligsten Änderungen des cerebralen Stoffwechsels sind die stark erhöhten Metabolitkonzentrationen von Ammoniak, Glutamin, Alanin und Laktat, während die Aspartatspiegel erniedrigt sind. Ursächlich für die Krampfaktivität wurde die Verarmung an energiereichen Phosphaten angesehen (Tower, D.B. 1963). Außerdem wurde eine Substratverarmung des Citratcyclus angenommen, da durch die als Detoxifikation wirkende, stark erhöhte Glutaminsynthese ein ständiger Abzug von α -KG

(= Alpha - Ketoglutarat) aus dem Citrat-Cyclus nötig ist (Bessman, S.P. et A.N. Bessman 1955; Tews, J.K. et al. 1963).

Fluorfettsäuren:

Zu den mit am stärksten wirksamen Krampfgiften gehören Fluorfettsäuren (FFA, z.B. Fluoracetat, Fluorbutyrat) bzw. deren Methylester. Bereits im praeconvulsiven Stadium sind die Spiegel von Glucose, Citrat, Ammoniak erhöht. Der erhöhte NH_3 Spiegel ist cerebralen Ursprungs, da keine Erhöhung der arteriellen NH_3 Konzentration auftritt (Benitez, D. et al. 1954; Tews, J.K. et W.E. Stone 1965). Glutamin ist unverändert bzw. geringgradig vermindert, während die Erhöhung von Laktat und Alanin erst im convulsiven Stadium erfolgt (Benitez, D. et al. 1954; Tews, J.K. et W.E. Stone 1965). Als Ursache für die convulsive Wirkung von FFA wird eine Hemmung oxidativer Vorgänge angenommen, da FFA im Intermediärstoffwechsel in Fluorcitrat übergeführt werden (Peters, R.A. 1957), welches einen stark wirksamen Inhibitor des Enzyms Aconitase, das eine Schlüsselrolle im Citrat-Cyclus spielt, darstellt (Peters, R.A. 1957). Diese Enzymhemmung erklärt evtl. den Substratspiegelabfall von Succinat, Fumarat und Malat im Convulsivstadium (Goldberg, N.D. et al. 1966). Neuere Befunde zeigen jedoch bereits starke Verschiebungen der Metabolitkonzentrationen im Stickstoffmetabolismus, ohne erkennbare Störung energiegewinnender Stoffwechselschritte (Tews, J.K. et W.E. Stone 1965). So zeigt sich z.B. bei subconvulsiven Dosen bereits ein erheblicher Anstieg von NH_3 (von $0.25 \mu\text{M/g}$ auf $1.2 \mu\text{M/g}$), der nur zum Teil durch die gleichzeitige Hemmung der Glutaminsynthetase erklärt werden kann (Tews, J.K. et W.E. Stone 1965).

Hypoglycaemie:

Die augenfälligsten Veränderungen im Gehirnstoffwechsel beim hypoglycaemischen Krampf sind die drastisch erniedrigten Glucose-, Glycogen-, Laktat- und Citratspiegel, während die Ammoniakspiegel bis zum zehnfachen ($2.5 \mu\text{M/g}$ Gehirn) der Norm ansteigen. Erheblich erhöht sind ebenfalls die Konzentrationen von Aspartat und Lysin (Tews, J.K. et W.E. Stone 1965; Shaw, R.K. et J.D. Heine 1965; King, L.J. et al. 1967). Der glyco-perische Krampf scheint nun das klassische Beispiel für die Krampfentstehung auf dem Boden gehemmter oxidativer, energiegewinnender Vorgänge zu sein, da Glucose normalerweise den entscheidenden Energielieferanten cerebraler, endergoner Reaktionen darstellt (Mc Ilwain, H. 1970).

Aufgrund der bisher geschilderten Befunde ist diesen sehr verschiedenen Krampfgiften gemeinsam:

1. eine Interferenz mit oxidativen, energieliefernden Stoffwechselschritten
2. eine starke Erhöhung der cerebralen Ammoniakspiegel

Beide Veränderungen werden bereits in der praeconvulsiven Phase beobachtet und könnten also in der Pathogenese cerebraler Krampfaktivität einen ätiologischen Faktor darstellen, während andere Metabolitveränderungen (z.B. erniedrigte Acetylcholinpiegel, Laktat - Alanin Spiegel erhöht) erst während Convulsionen in Erscheinung treten und demnach Folge, aber nicht Ursache des Anfalls sind (Tews, J.K. et W.E. Stone 1965).

ad 1. Die von Tower beschriebene Hemmung der cerebralen O_2 Aufnahme bei NH_3 Intoxikation (Tower, D.B. 1963) tritt bei NH_3 Konzentrationen von 15 mM auf. Werden jedoch geringere Konzentrationen

gewählt (5 mM), so wird eine erhebliche Steigerung der O_2 Aufnahme um bis zu 40 % beobachtet (Lahiri, S. et J.H. Quastel 1963). Ammoniakkonzentrationen, die bereits krampfauslösend wirken (Tews, J.K. et W.E. Stone 1965; Gastaut, H. et al. 1968 a), werden auch bei Intoxikationen mit FAc und bei Hypoglycaemie erreicht, ohne daß eine Störung der Bildung energiereicher Phosphate meßbar wäre (Mc Ilwain, H. 1969; Passonneau, J.V. 1969). Die durch NH_3 merklich stimulierte anaplerotische Aktivität (Pyruvat Carboxylase!) des Gehirns machen eine Hemmung des cerebralen Citratcyclus aufgrund von Substratverlust unwahrscheinlich (Berl, S. et al. 1962; Tews, J.K. et W.E. Stone 1965). Ebenso wenig lassen sich Convulsionen, die durch Hypoglycaemie, PFA ausgelöst werden, durch einfaches Energiedefizit (Substratmangel, Block des Citratcyclus erklären, da in all diesen Bedingungen normale Creatinphosphat und ATP Spiegel sowohl im prae- als auch im Convulsivstadium gefunden werden (Passonneau, J.V. 1969). Verwertungsstörungen von energiereichen Phosphaten sind ebenfalls unwahrscheinlich, da ein normaler Phosphat Turnover gemessen wurde (Passonneau, J.V. 1969). Befunde bei durch PTZ ausgelösten Krämpfen legen sogar die Vermutung nahe, daß zur Aufrechterhaltung von Krampfzuständen ein hohes Phosphatpotential vonnöten ist (Stone, W.E. et al. 1945), d.h. daß ein einfaches Energiedefizit als möglicher Auslöser cerebraler Anfälle gegenwärtigen Befunden nach, nicht diskutiert werden kann (Passonneau, J.V. 1969).

ad 2. Trotz mangelnder Kenntnis detaillierter Stoffwechselschritte, zeigen neurochemische Analysen, daß Ammoniak eine zentrale Stellung im cerebralen Stickstoffwechsel einnimmt (Vrba, R. et al. 1958; Vrba, R. et J. Folbergrova 1959). Zentralnervöse Aktivität und

Ammoniakbildung sind eng korreliert (Weil-Malherbe, H. et R.H. Greene 1955; Weil-Malherbe, H. et A.L. Drysdale 1957; Vrba, R. et al. 1958; Vrba, R. et J. Folbergrova 1959). Eine Reihe von Untersuchern konnte zeigen, daß unter Stimulation Nervengewebe vermehrt NH_3 freisetzt, welches in der folgenden Ruhephase wieder gebunden wird (Vrba, R. 1955; Vrba, R. et al. 1958). Beide Reaktionen sind energieabhängig (Weil-Malherbe, H. et A.L. Drysdale 1957); der NH_3 Bindungsmechanismus reagiert außerordentlich empfindlich gegenüber Störungen des zellulären Stoffwechselgleichgewichts (Folbergrova, J. et al. 1969). Protein gebundenes Glutamin stellt offensichtlich die Quelle für diesen aktivitätssynchronen NH_3 Bildungs/Bindungs Cyclus dar (Tower, D.B. 1963). In vitro Beobachtungen mit N^{15} markiertem Substrat zeigen rapide Umsatzraten der Amidgruppe des proteingebundenen Glutamin und beweisen so die erhebliche Dynamik des cerebralen NH_3 Transfer. Die N^{15} Inkorporation in proteingebundenes Glutamat übertrifft die C^{14} Markierung des Glutamats in die gleiche Proteinfraction um den Faktor 100 (Tower, D.B. 1963; Wherret, J.R. et D.B. Tower 1963), was umso bedeutungsvoller in Hinsicht auf den ohnehin schon sehr hohen Proteinumsatz des ZNS ist. In Anbetracht der Sensitivität des Ammoniakbindungsmechanismus erscheint es verständlich, daß bei Auslenkung des Stoffwechsels durch Hypoglycaemie, FFA ein rapider NH_3 Anstieg im ZNS erfolgen kann. (Der gesamte proteingebundene Amid - N von Glutamin beträgt $25 - 30 \mu\text{M/g}$, stellt also ein beträchtliches Reservoir für endogenes Ammoniak dar (Tower, D.B. 1963)). In vivo Untersuchungen zeigen

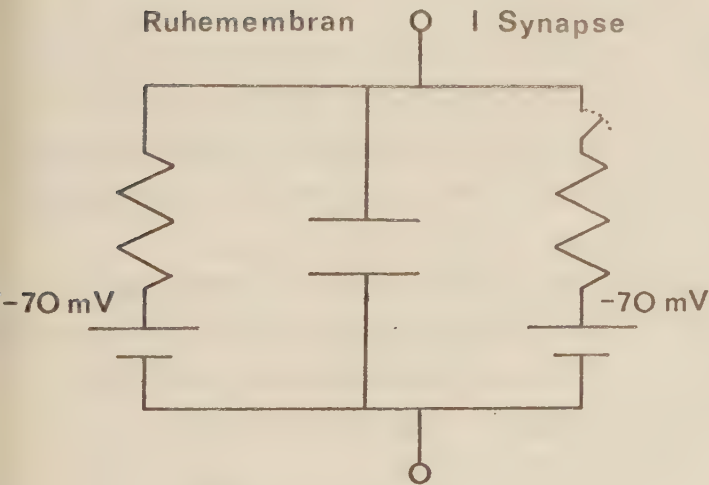
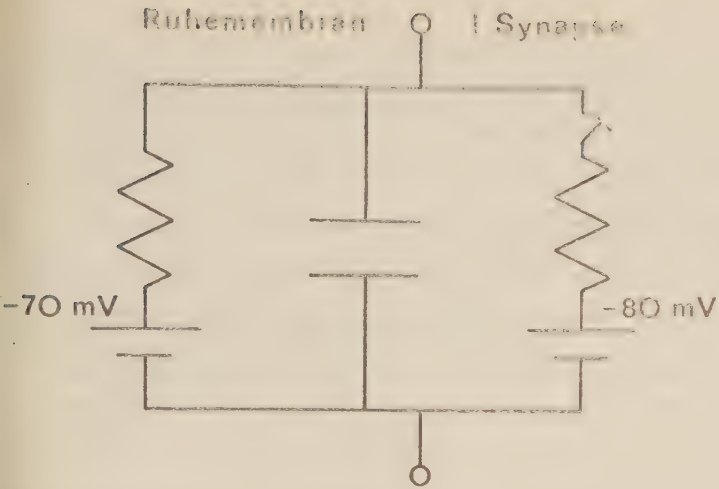
auch deutlich den cerebralen Ursprung der erhöhten NH_3 Spiegel in den entsprechenden Situationen (Tews, J.K. et W.E. Stone 1965; Folbergrova, J. et al. 1969).

Ein völlig neuer Aspekt des neuronalen Ammoniak Metabolismus wurde kürzlich durch elektrophysiologische Untersuchungen aufgedeckt (Lux, H.D. et P. Schubert 1969), bei denen es gelang, einen außerordentlich spezifischen Effekt von NH_4^+ -Ionen auf die neuronale Membran festzustellen. Mikroiontophoretisch, intracellulär applizierte NH_4^+ -Ionen führen zu einem Verlust der hyperpolarisierenden Elektrogenese bei der postsynaptischen Inhibition. Dabei bleibt zwar die durch das praesynaptische Signal induzierte Permeabilitätsänderung der postsynaptischen, inhibitorischen Membran bestehen, jedoch wird dadurch keine Hyperpolarisation wie im Normalfall verursacht. Dieser Effekt ist gleichbedeutend mit einer Reduktion der im Ersatzschaltbild für die postsynaptische Membran (s.u.) auftretenden EMK (elektromotorische Kraft) der postsynaptischen Hemmung. Die EMK des IPSP (inhibitorisches postsynaptisches Potential), auch E_{IPSP} (Gleichgewichtspotential des IPSP) genannt, verschiebt sich also unter Ammoniumwirkung in Richtung Ruhepotential (RP) bis zur Äquilibrierung mit demselben, was gleichbedeutend mit einer beträchtlich verringerten Hemmung = Disinhibition ist. Unter disinhibierender Wirkung soll also im weiteren die Verschiebung des E_{IPSP} in Richtung RP verstanden werden.

Die Bedeutung hemmender Mechanismen für die Homöostase neuronaler Aktivität (Eccles, J.C. 1968) wird deutlich durch die hohe krampf-induzierende Wirkung von Blockern inhibitorischer, synaptischer

Aktivität (Strychnin, Bicucullin) unterstrichen. Ammoniak ist als einziger Metabolit mit bekannter disinhibitorischer Wirkung in den zuvor beschriebenen Krampfmodellen konstant und - was von Bedeutung ist - bereits in der praeconvulsiven Phase erhöht. NH_4^+ könnte also entscheidenden Anteil in der Pathogenese cerebraler Anfälle haben.

Um diese Möglichkeit zu prüfen, wurden die im Folgenden beschriebenen Versuche mit krampfauslösenden Dosen von Ammoniumacetat und Fluoracetat und bei Insulin induzierter Hypoglycaemie unternommen.



Ersatzschaltbild für Ruhemembran und inhibitorische Synapse.

- a) Normalzustand
- b) Unter Ammoniumwirkung wird Äquilibration des E_{IPSP} mit dem Ruhepotential beobachtet.

IV. Methodik

Um die Grundmechanismen der zur Krampfaktivität führenden neuronalen Potentialveränderungen beobachten zu können, sind intracelluläre Registrierungen der Potentiale nötig, da extracelluläre Ableitungen ebenso wie die Aufzeichnung von Summenpotentialen (LEG!) zwar deutlich Veränderungen der Aktivitätsmuster im Krampf aufzeigen, jedoch keinen Rückschluß auf den zugrundeliegenden Mechanismus zulassen. So kann z.B. an der spinalen Vorderwurzel durch extracelluläre Ableitung das Feldpotential antidrom ausgelöster IPSPs gemessen werden (Araki, T. et al. 1960; Werman, R. 1962); eine Verminderung dieser Potentiale kann jedoch durch verschiedene Mechanismen zustande kommen, z.B. durch verringerte Effektivität der inhibitorischen, praesynaptischen Elemente oder durch eine Reduzierung der "treibenden Kraft" (EMK) der postsynaptischen, inhibitorischen Ionenbatterie. Die der Reduktion der Amplitude des IPSP zugrundeliegenden Vorgänge können nur durch gleichzeitige Bestimmung des E_{IPSP} unterschieden werden, was mit extracellulärer Registrierung nicht möglich ist.

Andererseits muß ein Nervenzellpräparat gewählt werden, das langdauernde intracelluläre Beobachtungszeiten ermöglicht, da die durch Systemapplikation injizierten Convulsiva teilweise recht lange Latenzzeiten bis zum Krampfbeginn zeigen (FAC z.B. bis zu 90 min) und eine kontinuierliche Registrierung

1. zum Studium der Kinetik der Potentialveränderungen
2. um verlässliche, vergleichbare Kontrollwerte zu erhalten unerlässlich ist.

Da intracelluläre Registrierungen an lumbosacralen Motoneuronen für 1-2 h ohne Schädigung der Zelle über mehrere Stunden durch-

geführt werden können, also oben genannte Bedingungen ausreichend erfüllt werden, wurde dieses Präparat für die im Folgenden beschriebenen Versuche gewählt.

Praeparation:

34 Katzen von 1,5 - 2,5 kg Körpergewicht wurden für die Praeparation mit 30 mg/kg KW Pentobarbital-Na (Nembutal) narkotisiert. Applikation von Substanzen erfolgte durch einen in die linke V. subclavia eingeführten Katheter. Die durchgeführte Tracheotomie ermöglichte künstliche Beatmung, die möglichst flach und frequent durchgeführt wurde, um Pulsationen des Rückenmarkes zu vermeiden. In der Regel (3 Ausnahmen) wurde ein Pneumothorax angelegt. Da Barbiturate einen ausgesprochen anticonvulsiven Effekt besitzen, also eine Interferenz mit den zu untersuchenden Substanzen zu erwarten war, erfolgte die Ausschaltung von Schmerzensationen während des Versuchs durch komplette Decerebrierung (6 Tiere) bzw. durch weitgehende Ausschaltung des Cortex durch Unterbinden der beiden Aa. carot. comm. In das linke Bein wurden Silberdrahtreizelektroden, die durch Kunststoffhülsen isoliert waren, an den freigelegten motorischen Anteilen des N. femoralis, des N. ischiadicus für den M. biceps fem. und M. semitendinosus und die motorischen Äste des N. tibialis (M. gastrocnemius et soleus) und N. fibularis (M. fibularis longus et brevis) angelegt. Paraffin mit niedrigem Schmelzpunkt (42° C) diente zur Einbettung der Nervenpräparation. Durch Laminektomie und Aufspaltung des Durasackes erfolgte die Freilegung des lumbosakralen Rückenmarkes. Die Auslösung des antidromen Reizes erfolgte durch eine Silberdrahtreizelektrode an den ventralen Wurzeln. Durch gewärmtes Mineralöl wurde das freigelegte Rückenmark abgedeckt. Applikation von Gallamin (Flaxedil^R) garantierte die völlige Relaxierung der Muskulatur.

Mikroelektroden:

Zur intracellulären Registrierung gelangten mit 1,5 M K - Citrat gefüllte Glasmikroelektroden mit 7 - 15 M Ω Widerstand zur Verwendung. Zur Reduktion von Spitzenpotentialen wurden die Spitzen der Mikroelektroden bis zu einem Durchmesser von 1 - 2 μ m leicht angebrochen.

Elektronik:

Die intracellulären Potentiale wurden mit Hilfe eines FET-Vorverstärkers mit $10^{11} \Omega$ Eingangswiderstand und Kapazitätsneutralisation gemessen und auf einem Zweistrahloszillographen und einem UV-Schreiber registriert. Der UV-Schreiber, dessen zeitliches Auflösungsvermögen eine fast spannungsgetreue Registrierung polysynaptischer IPSPs gestattete, diente vor allem zur Aufzeichnung von Spannungsänderungen mit großer Zeitkonstante. Unmittelbar nach Beginn jedes Reizcycluses folgte ein Elektrodentestpuls nach der Methode von Lettvin u.a. (Lettvin, J.Y. et al. 1958). Mit Hilfe von rechteckförmigen Stromimpulsen wurden der Nervenzellmembran unterschiedliche Spannungswerte aufgeprägt, die der Ermittlung des E_{IPSP} dienten. Die Übertragung der Stromimpulse ($\leq \pm 25$ nA) auf die Zelle erfolgte über einen Widerstand von $10^9 \Omega$ durch die Meßelektrode. Als Maß für den aufgeprägten Strom wurde der über dem $10^9 \Omega$ Widerstand entstehende Spannungsabfall auf dem Oszillographen abgebildet.

Kompensation des Elektrodenwiderstandes:

Der durch die Meßelektrode gegebene Stromimpuls führt zu einem dem Elektrodenwiderstand entsprechenden Spannungsabfall, der dem zu messenden Signal überlagert ist. Mittels einer Brückenschaltung kann dieser Artefakt kompensiert werden. Dabei wird ein Bruchteil der Spannung des Pulsgenerators für die De- und Hyperpolarisation

der Nervenzellmembran angegriffen und vom Meßsignal abgezogen. Die Serienschaltung von Vorwiderstand ($1000\text{ M}\Omega$) und Elektrode einerseits, und diese Spannungsteilerschaltung andererseits, bilden so die zwei Äste einer Wheatstone'schen Brücke (Frank, K. et M.G.F. Fuortes 1961).

Reizung:

Durch einen Taktgeber wurden drei Pulsgeneratoren getriggert, die ihrerseits die Impulse für

1. die De- und Hyperpolarisation der Nervenzellmembran
2. die peripher antidrome Reizung
3. den Elektrodentestpuls

lieferten (Abb. 1).

ad 2. Die Auslösung des 0,1 msec. dauernden peripheren oder antidromen Reizes erfolgte 25 - 40 msec. nach Beginn des Impulses zur Bestimmung des E_{IPSP} . Der Elektrodentestpuls wurde 40 - 50 msec. vor dem Reizimpuls getriggert. Die Reizfrequenz betrug 1/sec. Die zur Auslösung der verschiedenen Potentiale nötige Stärke des peripheren bzw. antidromen Reizes blieb während des gesamten Versuches unverändert. Die Reizstärke für EPSPs war so bemessen, daß zwar eine maximale Amplitude erreicht wurde, aber noch keine Auslösung des Aktionspotentials erfolgte. Dabei lag die relative Reizschwelle der peripheren Reize für IPSPs um ungefähr 30% - 50 % über derjenigen der homogenen EPSPs.

ad 3. Die Dauer des Testpulses für die Registrierelektrode war mit 1 msec. so kurz bemessen (kurz gegenüber Membranzeitkonstanten), daß nur unerhebliche Veränderungen der neuronalen Potentiale zu erwarten waren.

Abb. 1: Blockschaltbild der Versuchsanordnung:

T = Taktgeber P_1 = Pulsgenerator für die periphere und antidrome Reizung P_2 = Pulsgenerator für Elektrodentestpuls P_3 = Pulsgenerator für De- und Hyperpolarisation der Nervenzellmembran R = Reizisolierungseinheit A = FET-Vorverstärker O = Oscillograph S = UV-Schreiber. Die Umrandung grenzt den Gewebsanteil mit den Symbolen für die peripheren und die antidromen Reizelektroden sowie die Registrierelektrode von der übrigen Versuchsanordnung ab.

 inhibitorisches Neuron  excitatorisches Neuron  Motoneuron.

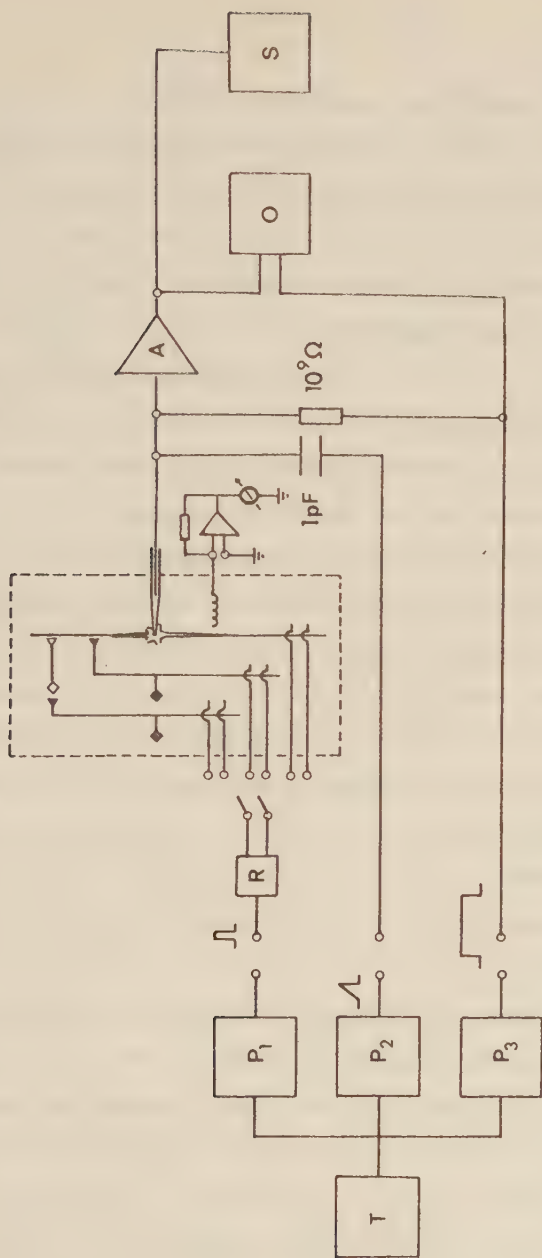


Abb.: 1

Applikation krampfinducierender Substanzen:

Um einen möglichst raschen Wirkungseintritt zu erzielen, wurden sämtliche krampfinducierenden Substanzen durch einen in der V. subclavia eingeführten Katheter mittels einer kontinuierlich arbeitenden Pumpe appliziert. Als optimale Infusionsrate erwies sich in einer Reihe von Experimenten 0,2 ml/min. - 1,0 ml/min. Damit konnten Störungen im cardiovasculären System (Arrhythmie, Asystolie) vermieden werden. Da entweder der Wirkungseintritt bzw. der Rückbildungseffekt für die einzelnen Stoffe relativ lange Zeiten (1 h - 2 h) in Anspruch nahm, war vor Infusionsbeginn eine 20 - 30 minütige Kontrollperiode der zu beobachtenden Motoneurone nötig, um so durch evtl. Schädigung der Nervenzelle auftretende Artefakte (z.B. Depolarisation des Ruhepotentials) ausschließen zu können. Zur Auswertung gelangten ausschließlich Motoneurone, deren Ruhepotentiale ≥ 63 mV waren und die während der Kontrollperiode weder eine Tendenz zur Depolarisation, noch Reduktionen der Amplitude des Aktionspotentials zeigten.

Ammoniumacetat:

Ammoniumacetat wurde aus folgenden Gründen als ammoniogener Krampfinduktor gewählt:

Die durch Ammoniumacetat erzeugten Veränderungen des Blut pH bewegen sich um den physiologischen Neutralwert ($\text{pH} = 7,23 - 7,3$) (Warren, K.S. et D.G. Nathan 1958). Dies ist deshalb von Bedeutung, da acidotische pH Werte (wie sie z.B. durch NH_4Cl induziert werden $\text{pH} \leq 7,0$)

1. die Krampfkaktivität unterdrücken können (Millichap, J.G. 1969)
2. Protonen in allerdings hoher Konzentration selbst disinhibierend wirken (Lux, H.D. et P. Schubert 1969).

3. Eine acidotische Stoffwechsellaage die Permeation von Ammoniak durch die Blut-Hirn-Schranke erheblich erschwert, da fast selektiv der nichtionisierte Anteil der $\text{NH}_3 / \text{NH}_4$ Fraktion permeiert (Warren, K.S. et D.G. Nathan 1958) und dieser Anteil entsprechend der Henderson-Hasselbalch Gleichung ($\text{pH} = 8.9 + \log \frac{\text{NH}_3}{\text{NH}_4}$) bei saurem pH verringert ist (Non ionic diffusion). Alkalisch reagierende Ammoniumsalze ($(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$, NH_4OH , $\text{pH} = 7.6$, $\text{pH} = 7.74$) sind ungeeignet, da sie einerseits stark cardiotoxisch wirken, so daß ischämische Alterationen der neuronalen Aktivitätsmuster nicht ausgeschlossen werden können, andererseits eine alkalotische Stoffwechselsituation die Krampfentstehung erheblich begünstigt (Gibbs, E.L. et al. 1935; Schwab, R.S. 1966) was sich notgedrungenenerweise in entsprechenden Veränderungen der Membranpotentiale reflektieren würde.

100 mg/kg KW - 300 mg/kg KW Ammoniumacetat (bei gleichmäßiger Verteilung im Gesamtorganismus entspricht das einem Gewebs NH_3 Spiegel im Gesamtorganismus von 1,3 - 3,9 $\mu\text{M/g}$ Gewebe) wurde in 10%-iger Lösung mit 0,2 ml/min. infundiert. (Um Krampfaktivität auszulösen, sind mindestens 25 mg NH_3 - N/kg KW zu applizieren) (Gastaut, H. et al. 1968 a). So trat einerseits nur eine minimale osmotische und Volumenbelastung des Kreislaufs auf, andererseits stieg der Gewebsammoniakspiegel rasch an. Es ist hier zu bemerken, daß langsam ansteigende NH_3 Spiegel häufig zu einer ausgeprägten Verminderung corticaler Aktivität führen (Tews, J.K. et W.E. Stone 1965). Wurden höhere Infusionsraten gewählt, so traten häufig Störungen von kardialer Seite auf (Arrhythmie, Asystolie), desgleichen wurden starke Depolarisationen der untersuchten Motoneurone beobachtet, die aber wahrscheinlich auf Artefakte zurückzuführen sind.

Na - Fluoracetat:

Als repräsentativer Vertreter Convulsionen induzierender Fluorfettsäuren wurde das Na Salz der Fluoressigsäure gewählt. Um Krämpfe mit FFA auslösen zu können, ist eine Dosierung von 1 mg/kg KW nötig (Tews, J.K. et W.E. Stone 1965). 100 mg Na Fluoracetat wurden in 100 ml physiol. Kochsalzlösung gelöst. 1 - 2 ml dieser Lösung wurden mit 0,2 - 1,0 ml/min. infundiert.

Insulin induzierter hypoglycaemischer Krampf:

Durch Hypoglycaemie ausgelöste Konvulsionen werden vor allem bei rasch abfallenden Blutglucosespiegeln beobachtet (Blattner, R.J. 1968). Um dies zu erreichen, wurden verhältnismäßig große Dosen von Insulin (40 - 60 I.E. / kg KW mit Infusionsraten von 0,2 - 0,5 ml/min.) appliziert. Diese Dosierung erzeugte innerhalb eines Zeitintervalls von 25 - 40 min. schwere hypoglycaemische Zustandsbilder mit Blutzuckerwerten < 40 mg%. Die jedoch gerade bei rasch abfallenden Blutzuckerspiegeln stark einsetzende sympatische Gegenregulation, d.h. die Entleerung der vor allem hepatischen Glycogendepots durch Adrenalin, muß möglichst unterbunden werden (Gastaut, H. et al. 1968 b). Dies wurde durch 1,5 tägliches Fasten und die zusätzliche i.m. Injektion von 10 mg Effortil am Vortag des Versuchs erzielt. Wird diese Bedingung nicht eingehalten, so kann es unter Insulinwirkung infolge der adrenergen Gegenwirkung bei gut gefütterten Tieren sogar zu Blutzuckeranstiegen kommen, bzw. eine signifikante Erniedrigung der Blutglucose tritt nicht innerhalb eines Beobachtungsintervalls von 1 - 2 h ein (Mergenhagen, D. et al. 1968). Um Erholungsphasen der durch Hypoglycaemie verursachten neuronalen Veränderungen zu untersuchen, wurden 0,5 - 2,0 g Glucose in Form

von isotoner Glucoselösung mit 0,5 ml/min. appliziert. Wurden hohe Infusionsgeschwindigkeiten gewählt (2,0 ml/min.), so wurden häufig die beobachteten Motoneurone verloren.

V. Ergebnisse.

Ammoniumacetat:

komplette Beobachtungen mit Erholung gelangen an 21 Motoneuronen, von denen 13 aus verschiedenen Einzelversuchen stammen. Eine zweite Registrierung wurde in 8 Fällen vorgenommen, nachdem zwischen erster und zweiter Infusion ein Zeitraum von 3 - 4 h vergangen war.

Folgende Änderungen der neuronalen Potentiale wurden unter NH_4Ac Infusion beobachtet:

1. Membranruhepotential.

Bei allen Motoneuronen wurde eine Depolarisation des RP von 2 - 15 mV kurz nach Beginn der Infusion beobachtet (Abb. 2). Die Größe dieser Depolarisation zeigt jedoch eine enge Beziehung zur gewählten Infusionsgeschwindigkeit. Bei Infusionsraten von 0.2 ml/min. betrugen die maximalen Depolarisationen des RP im Durchschnitt 2 - 8 mV. Stärkere RP Potentialverluste wurden ausschließlich bei höheren Infusionsraten (15 mV bei 2.0 ml/min.) beobachtet. Innerhalb eines Zeitintervalls von 10 - 30 min. p.i. kehrten jedoch bei 16 Neuronen die Ruhemembranpotentiale auf ihren Ausgangswert zurück (Abb. 2). In enger zeitlicher Beziehung zur Reduktion der EMK des IPSP (s.u.) traten kleine Fluktuationen des Ruhepotentials auf (spontane, unterschwellige, excitatorische synaptische Aktivität), die oft von spontanen, kurzdauernden Entladungssalven begleitet waren.

2. Aktionspotential.

Die Amplituden der Aktionspotentiale zeigen entweder keine Veränderung oder in Abhängigkeit von den Änderungen der den Membranruhepotentialen Reduktionen der Größe von 3 - 10 mV. Die Ausgangswerte

Abb. 2: Zeitverlauf der Potentialänderungen eines Biceps-semi-
dinosus Motoneurons nach Infusion von 3,5 mM NH_4Ac / kg KW.



Abb.: 2

Abb. 3: Mittel- und Extremwerte des E_{IPSP} von 8 Motoneuronen während und nach Infusion von 10 % NH_4Ac Lösung. Die Pfeile deuten das Infusionsintervall an. Bei 6 Zellen wurde 1,8 - 2,6 mM / kg infundiert, bei 2 Zellen 3,5 - 3,8 mM / kg KW. Die gepunktete Linie bezieht sich auf den Mittelwert des E_{IPSP} der beiden letzteren Zellen. Die E_{IPSP} s sind von den Ruhepotentialen der entsprechenden Zellen aus aufgetragen.

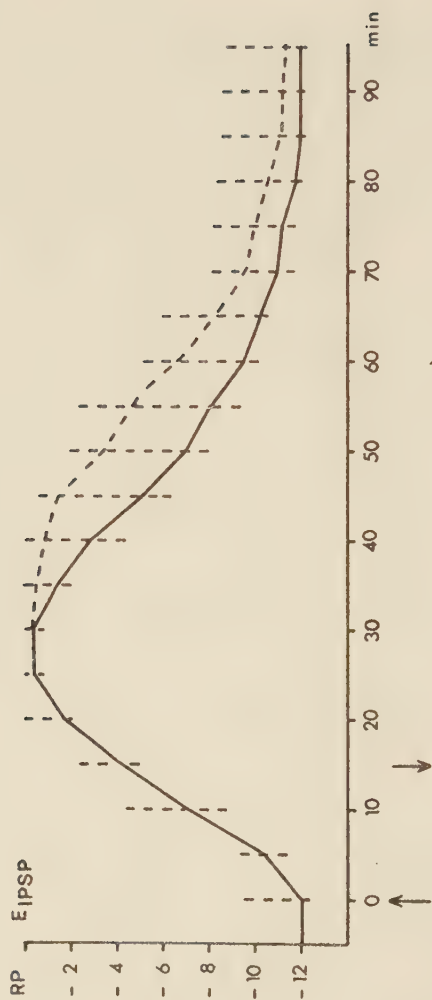


Abb. 4: Aktionspotentiale und Serie von IPSPs (bei verschiedener Membranpotentialen) eines Motoneurons vor, 25 min., 90 min nach Infusion von 1.8 mM / kg KW Ammoniumacetat. Die verschiedenen Membranpotentialen wurden durch rechteckförmige Strompulse unterschiedlicher Stärke erzeugt. Die Punkte deuten das jeweilige E_{IPSP} an.

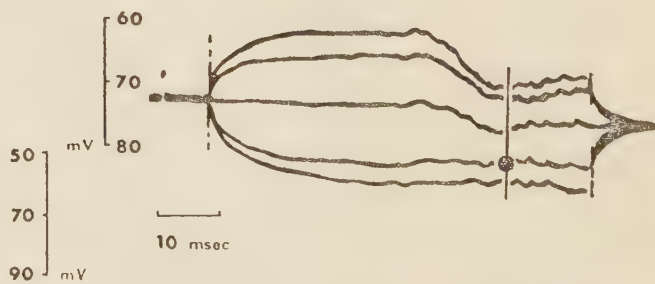
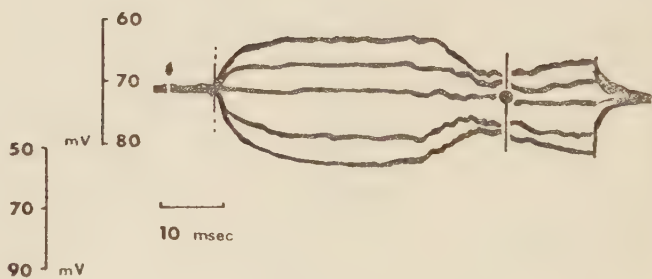
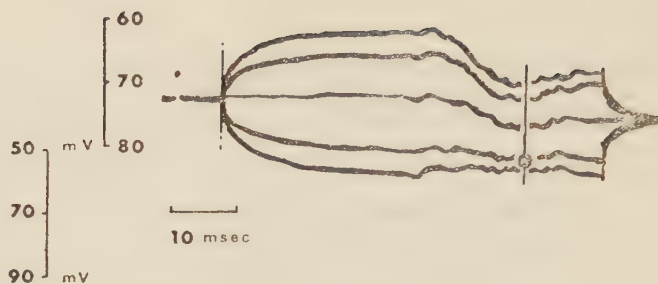


Abb. 5: Größe und Vorzeichen des IPSP als Funktion des jeweiligen Membranpotentials eines Motoneurons vor () 30 min. () und 95 min. () nach Infusion von 3,5 mM NH_4Ac / kg KW. Die Pfeile deuten das Ruhepotential der Zelle an. Das Gleichgewichtspotential ist die Abszisse des Schnittpunktes der Kurve mit der Null-Linie für die Amplitude des IPSP. Die Steigung der Kurve im IPSP/MP Diagramm ist ein Maß für die Leitfähigkeit der inhibitorischen postsynaptischen Membran, unter der Voraussetzung, daß die Strom-Spannungscharakteristik der Ruhemembran unverändert bleibt (siehe Abb. 6).

Abb. 6: Strom-Spannungskennlinie eines Motoneurons vor (●) 25 min.
(○) und 70 min. (▲) nach Infusion von 2,5 mM NH_4Ac / kg
KW.

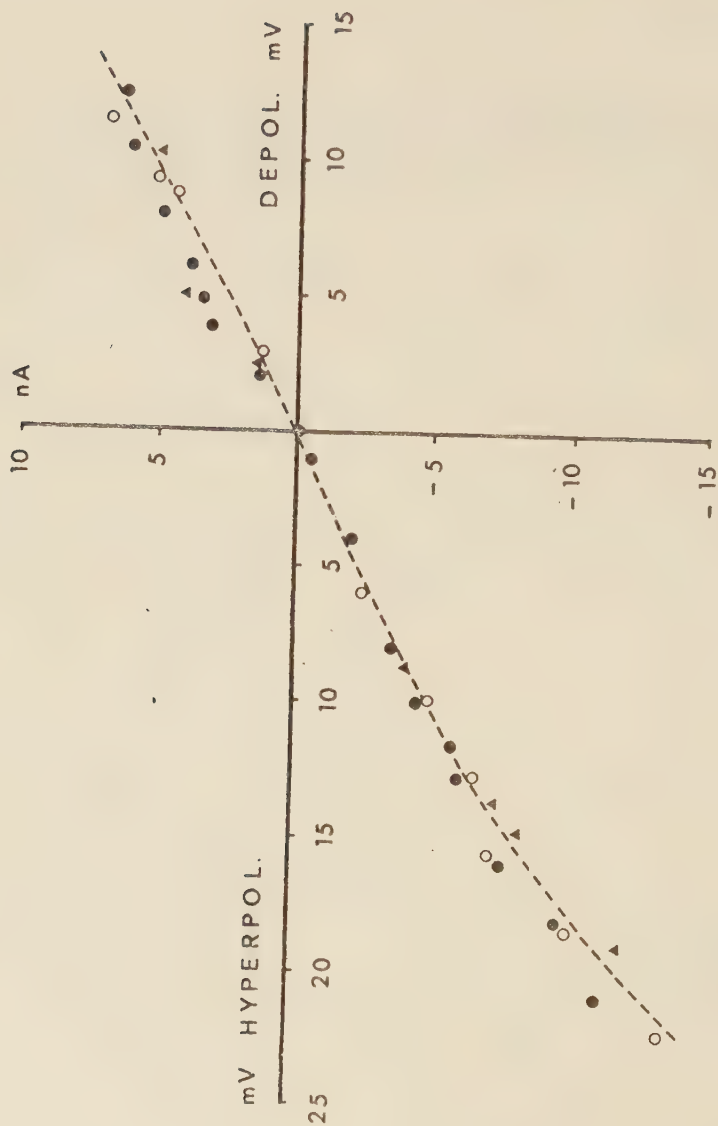


Abb.: 6

wurden ebenfalls innerhalb 10 - 30 min. p.i. wieder erreicht (Abb. 2)

3. EPSP.

Trotz vermehrter spontaner, excitatorischer synaptischer Aktivität, zeigten homogene, durch, für die Auslösung des Aktionspotentials unerschwellige Reizung hervorgerufene, EPSPs während der gesamten Versuchsdauer keine signifikante Veränderung (Schwankungen um 1 - 1.5 mV) (Abb. 2). Um die beobachtete depolarisierende Verschiebung des E_{IPSP} zu erklären, sollten EPSPs mit Amplituden $\gg 10$ mV zu erwarten sein.

4. IPSP und E_{IPSP}

7 - 10 min. nach Infusionsbeginn zeigte sich bereits eine deutliche Reduktion des IPSP und der EMK des IPSP (Abb. 2, 3). Ohne eine einzige Ausnahme führte innerhalb eines Zeitraumes von max. 25 - 30 min. Ammoniumacetat zu einer depolarisierenden Verschiebung des Gleichgewichtspotentials des IPSP in Richtung Membranruhepotential bis auf weniger als 10 % des Kontrollwertes, d.h. zu einer nahezu bis vollständigen Äquilibrierung des E_{IPSP} mit dem Ruhepotential des Motoneurons (Abb. 2, 3, 4). Vorzüglich zu diesem Zeitpunkt wurden spontane, kurzdauernde Entladungssalven der Zelle registriert. Diese depolarisierende Verschiebung der EMK des IPSP wurde sowohl bei direkten IPSPs (der Flexorenantagonisten) als auch bei polysynaptischen IPSPs beobachtet. Die Dauer der Äquilibrierung der IPSPs mit dem Membranruhepotential zeigt eine klare Beziehung zur applizierten NH_4Ac Dosis (100 mg/kg KW erzeugen eine Äquilibrierung für 3 - 5 min., 300 mg/kg KW eine Äquilibrierung für 15 - 20 min) (Abb. 3). Die Reversion der EMK des IPSP war annähernd linear mit einer Halbwertszeit von $T_{1/2} = 15 - 20$ min. (Abb. 3). In über 80 % der beobachteten

Motoneurone konnte gezeigt werden, daß durch Ammonium keine Verminderung der inhibitorischen synaptischen Wirksamkeit auftritt, trotz der Wirkung auf die EMK des IPSP. (Unter inhibitorischer synaptischer Wirksamkeit wird hier die Beziehung zwischen Intensität des Einzelreizes und der dadurch erzielten Permeabilitätsänderung der Nervenzellmembran für Cl^- und/oder K^+ verstanden). Trägt man die Amplitude des IPSP als Funktion des jeweiligen Membranpotentials auf, so zeigt sich, daß die unter NH_3 Wirkung ermittelte Kurve innerhalb eines großen Potentialbereiches der Kontrollkurve parallel annähernd verläuft (Abb. 5). Andererseits wird die Verschiebung des Gleichgewichtspotentials des IPSP in Richtung RP deutlich demonstriert (Abb. 5). Die Reversibilität der Ammoniumwirkung zeigt der Vergleich der Kontrollkurve mit der Kurve der 90 min. Werte (Abb. 5). In 4 Motoneuronen wurde als Spätwirkung (5 - 10 min. nach Äquilibriumierung) eine reversible Verringerung der inhibitorischen synaptischen Wirksamkeit festgestellt: Die Steigung der unter NH_3 Wirkung ermittelten Kurven verringert sich um bis zu 30 %, was gleichbedeutend mit einer verringerten Abhängigkeit der IPSP Amplitude vom Membranpotential ist. (Unter Strychnin, das vornehmlich auf die inhibitorische, synaptische Transmission durch Transmitterblockade einwirkt (Roper, S. et J. Diamond 1969), ergibt sich bei dieser Art der Darstellung eine Identität der Kurve der Amplitude des IPSP mit der Abscisse (i.e. das jeweilige Membranpotential)). Praesynaptische Wirkungen von Ammoniak sind, wenn auch in der Minderheit der Fälle und als Späteeffekt, nicht auszuschließen, da aufgrund der unveränderten Strom-Spannungskennlinie der beobachteten Zelle geschlossen werden kann, daß keine Alteration der neuronalen Membran für diese

verminderte Wirksamkeit des IPSP verantwortlich ist (Abb. 6).

Zusammenfassung:

Infusion von 100 - 300 mg NH_4Ac /kg KW mit 0.2 ml/min. führt zu geringen Änderungen der Werte der Membran- und Aktionspotentiale, die sich bis spätestens innerhalb von 30 min. p.i. rückbilden. EPSPs zeigen keine Veränderung. Maximale Reduktionen des E_{IPSP} bis auf weniger als 10 % des Kontrollwertes werden innerhalb eines Zeitraumes von 30 min. beobachtet. Die Dauer der Äquilibration der EMK des IPSP mit dem RP ist abhängig von der applizierten NH_4Ac Menge. Die Rückbildung des E_{IPSP} auf Kontrollwerte zeigt eine annähernd lineare Kinetik mit einer Halbwertszeit von 15 - 20 min. Mit wenigen Ausnahmen konnte keine praesynaptische Wirkung von NH_4Ac festgestellt werden. Spontane Entladungssalven des Motoneurons werden fast ausschließlich zu Beginn und während der Äquilibration der EMK des IPSP mit dem RP beobachtet.

Hypoglycaemie:

Die beobachteten Potentialveränderungen unter Hypoglycaemie-Glucoseinfusion stammen von 14 Motoneuronen. Jede der Zellen repräsentiert einen Einzelversuch, da die durch i.v. Glucoseinjektion nach Hypoglycaemie hervorgerufenen Blutglucoseerhöhungen ein nochmaliges, rasches Absinken des Blutzuckers innerhalb der Versuchsdauer nicht zuließen.

Folgende Änderungen der Nervenzellpotentiale wurden bei rascher, tiefer Hypoglycaemie beobachtet:

1. Membranruhepotential.

Sämtliche beobachteten Motoneurone zeigten eine Depolarisation des RP um 3 - 10 mV innerhalb 5 - 15 min. nach Infusionsbeginn (Abb. 7). Diese Verringerung des Membranpotentials bildete sich jedoch in 10 der beobachteten Zellen innerhalb von 30 - 40 min. vollständig bzw. fast vollständig (Potentialänderung des RP 2 - 3 mV) zurück. Fluktuationen des Membranpotentials wurden in 9 Fällen beobachtet.

2. Aktionspotential.

Reduktionen der Amplitude der Aktionspotentiale im Bereich von 4 - 10 rV wurden mit einem den Änderungen der Ruhepotentiale analogen Zeitverlauf beobachtet (Abb. 7). In enger zeitlicher Korrelation mit der annähernden Äquilibrierung der EMK des IPSP mit dem RP ($m = \pm 5$ min.) (s.u.) traten häufig länger als die bei NH_4Ac beobachtet dauernde Entladungssalven der Motoneurone auf.

3. LPSP

Konstante oder typische Veränderungen der durch für die Auslösung des Aktionspotentials unterschwellige Reizung hervorgerufenen homogenen EPSPs konnten während der gesamten Versuchsdauer nicht festgestellt werden (Abb. 7). Die spontane, excitatorische synaptische

Abb. 7: Zeitverlauf der Potentialänderungen eines Motoneurons nach Infusion von 60 IE Insulin / kg KW und 10 ml 5 %-iger Glucoselösung. Die Pfeile deuten das Infusionsintervall für Insulin ($\uparrow \downarrow$) bzw. für Glucose ($\uparrow \downarrow$) an.

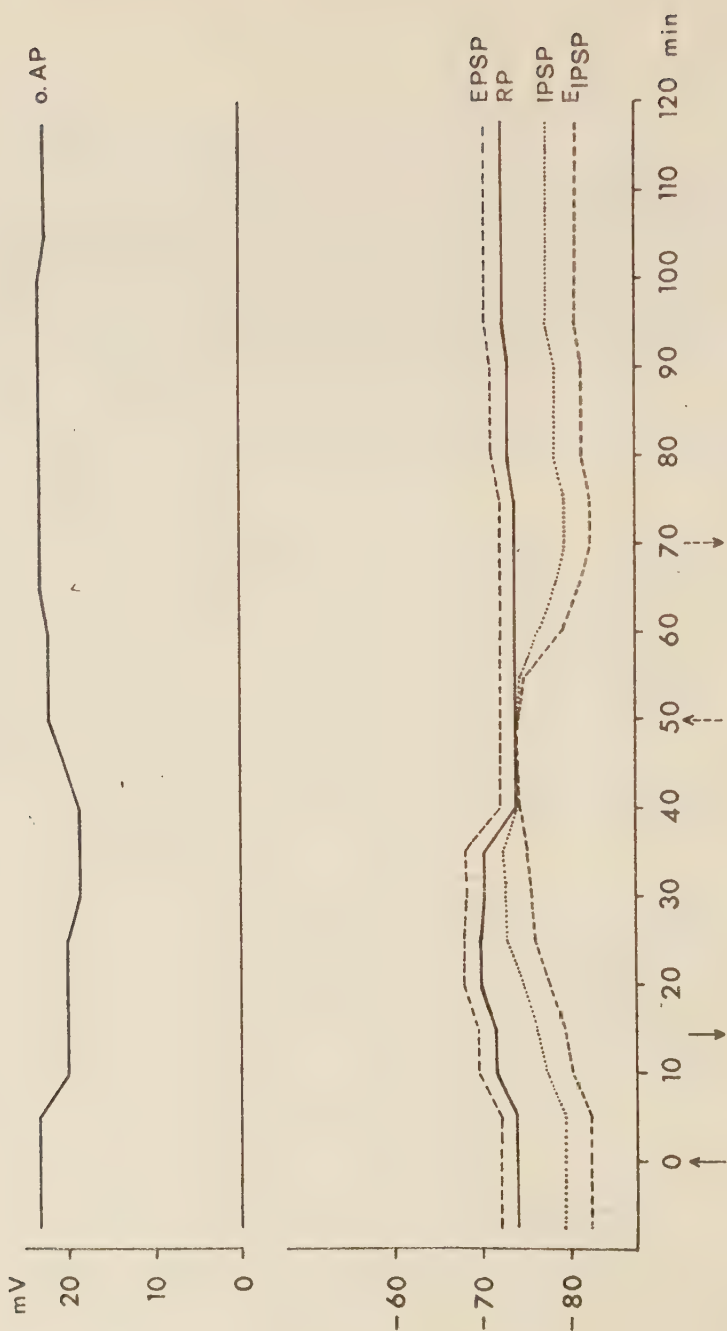


Abb.: 7

Abb. 8: Mittel- und Extremwerte des E_{IPSP} von 6 Motoneuronen während und nach Infusion von 60 IE Insulin / kg KW und 5 - 7 ml 5 %-iger Glucoselösung. Die E_{IPSP} s sind von den entsprechenden Ruhepotentialen aus aufgetragen.

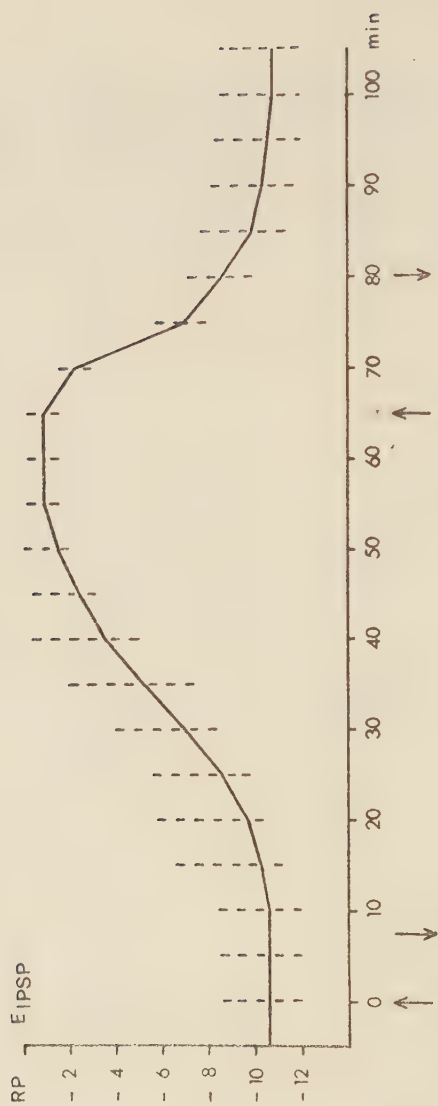


Abb.: 8

Abb. 9: Aktionspotentiale und Serie von IPSP, (bei verschiedenen Membranpotentialen) eines Motoneurons vor und 55 min. nach Insulinapplikation sowie 17 min. nach Glucoseapplikation. Die Punkte deuten das jeweilige E_{IPSP} an.

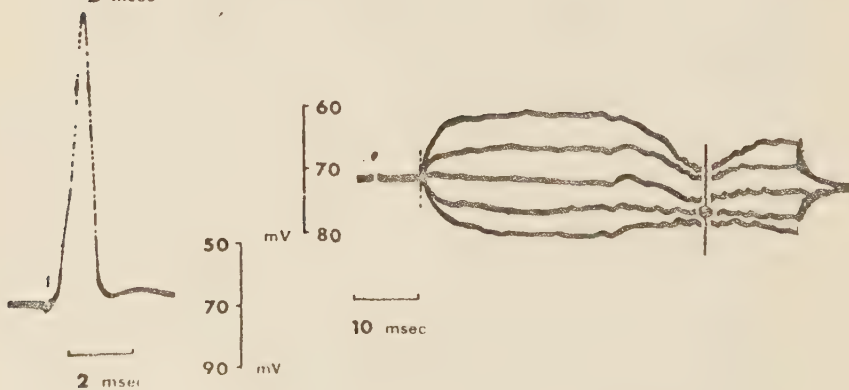
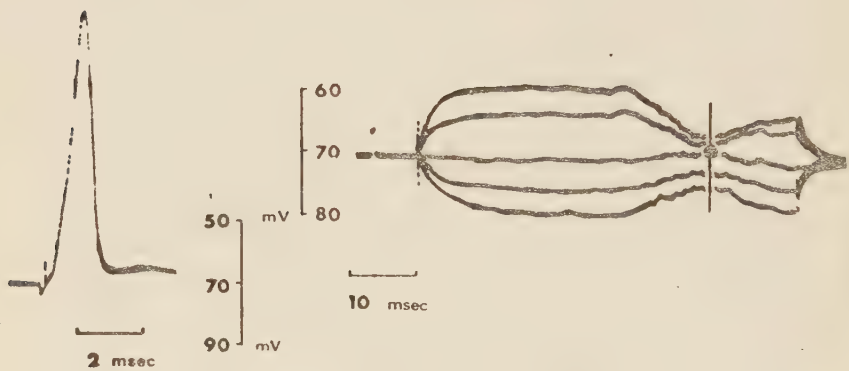
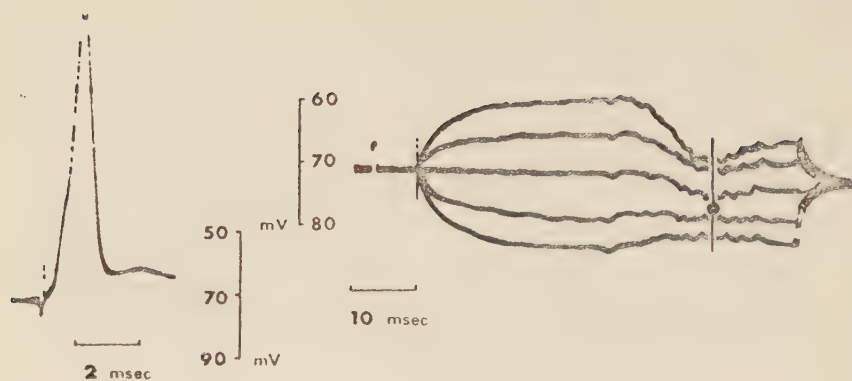


Abb. 10: Zeitverlauf der Potentialänderungen eines Motoneurons,
das bei tiefer Hypoglycaemie punktiert wurde, nach Glu-
coseapplikation.

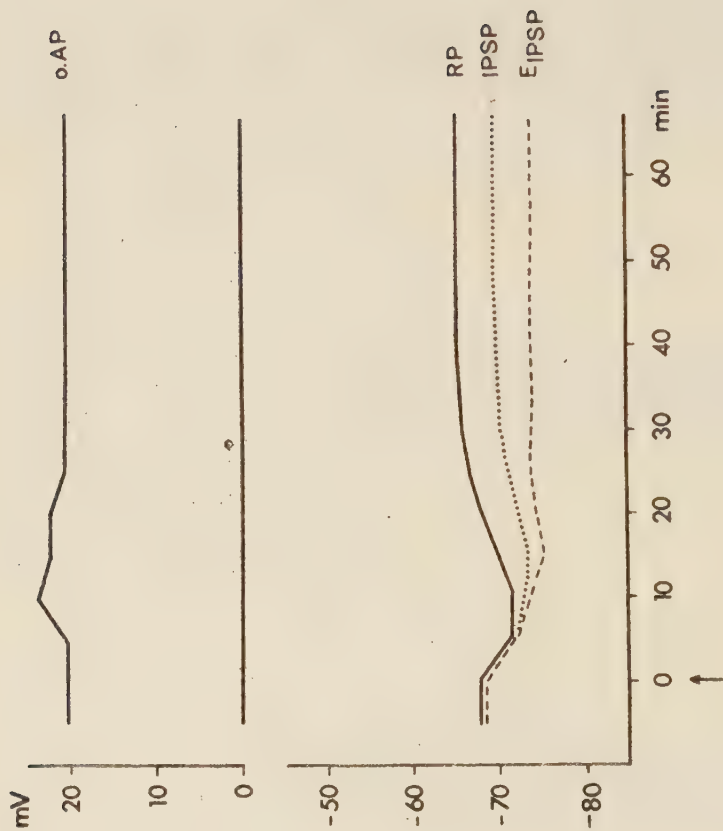
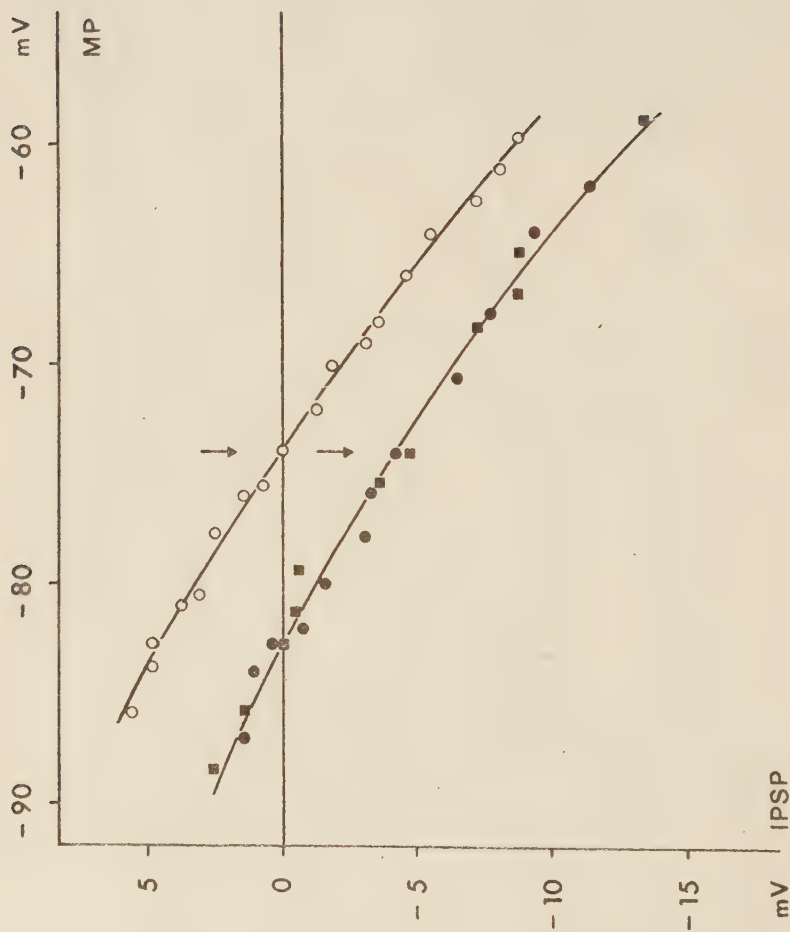


Abb.: 10.

Abb. 11: Größe und Vorzeichen des IPSP als Funktion des jeweiligen Membranpotentials vor (●) und 47 min. nach (○) Insulinapplikation und 25 min. nach Glucoseapplikation. Die Pfeile deuten das Ruhepotential der Zelle an.



Aktivität war deutlich erhöht.

4. IPSP und E_{IPSP}

15 - 25 min. nach Insulinapplikation zeigte sich eine erste, wenn auch geringgradige Reduktion des IPSP, ebenso wie des E_{IPSP} (Abb. 7, 8). Mit 1 Ausnahme (hier fielen die BZ-Werte innerhalb von 2 h nicht unter 40 mg%) führte die durch Insulin induzierte Hypoglycaemie innerhalb von 40 - 65 min. ($m = 53$ min.) zu einer depolarisierenden Verschiebung der EMK des IPSP in Richtung RP bis auf weniger als 15 % des Kontrollwertes, d.h. ähnlich wie mit NH_4Ac zu einem fast völligen Ausgleich des E_{IPSP} mit dem Membranruhepotential des beobachteten Neurons. (Dies gilt sowohl für direkte als auch für polysynaptische IPSPs) (Abb. 7, 8, 9, 10). Besonders dieses Zeitintervall war durch spontane Entladungsmuster gekennzeichnet ($m = \pm 5$ min.) (s. oben). Längeres Aufrechterhalten des hypoglycaemischen Zustandes führte zu keinen weiteren Änderungen der Potentiale. Die Beobachtungsintervalle nach Äquilibration des E_{IPSP} mit dem RP während Hypoglycaemie wurden nicht über 20 min. ausgedehnt. Die spezifische Natur dieser Potentialveränderungen wird in Abb. 10 durch das Beispiel eines Motoneurons demonstriert, das erst im Zustand tiefer Hypoglycaemie ($BZ \ll 40$ mg%) punktiert wurde, eine Schädigung des Metabolismus der beobachteten Zelle durch ein langes Registrierungsintervall also ausgeschlossen werden kann. Bei einem Membranruhepotential von 68 mV zeigt sich ein E_{IPSP} von 68.5 mV (Abb. 10). Durch Hypoglycaemie wird keine Veränderung der inhibitorischen Wirksamkeit verursacht, zumindest nicht während der in den Experimenten gewählten Zeitintervalle. Der weitgehend parallele Verlauf der Hypoglycaemiekurve zur Kontrollkurve im IPSP / MP Dia-

gramm bestätigt dies (Abb. 11). Ausgeprägt ist wiederum die starke depolarisierende Verschiebung des E_{IPSP} (Abb. 11).

Glucoseinfusion:

1. Membranpotential, Aktionspotential, EPSP

Sowohl das RP wie auch die Amplitude des AP zeigten unter Glucoseinfusion, wenn überhaupt, nur geringe Schwankungen von $\pm 2 - \pm 4$ mV. Ebensowenig konnten konstante oder typische Veränderungen der EPSP registriert werden (Abb. 7).

2. IPSP und E_{IPSP}

Unter Glucoseinfusion kommt es zu einer außerordentlich raschen Rückkehr des IPSP und der EMK des IPSP zu den Kontrollwerten mit Halbwertszeiten von 7 - 10 min. ($m = 9,2$ min.) (Abb. 7, 8). Hypoglycaemische Zustände solcher Tiefe und Dauer werden von Motoneuronen offensichtlich ohne schwere Schädigung ertragen, was durch die Membran- und Aktionspotentiale sowie die völlige Reversibilität der Reduktion der EMK des IPSP gezeigt wird (Abb. 7, 8, 9). (Dies wird zusätzlich durch die Potentialwerte des IPSP im Vergleich zu den Kontrollwerten nach Glucoseapplikation im IPSP/MP Diagramm verdeutlicht (Abb. 11)).

Zusammenfassung:

Insulin induzierte Hypoglycaemie führt initial zu Verlusten des Membranpotentials und der Amplitude des Aktionspotentials von 3 - 10 mV, diese Verluste bilden sich jedoch innerhalb von 30 - 40 min p.i. fast vollständig zurück. Die EPSPs sind unverändert. Eine maximale Reduktion des E_{IPSP} bis auf weniger als 15 % des Kontrollwertes wird innerhalb von 40 - 65 min. ($m = 53$ min.) p.i. beobachtet.

Eine weitere depolarisierende Verschärfung der EMK des IPSP findet innerhalb der Beobachtungszeit nicht statt. Spontane Entladungen der Zelle werden vor allem in der Initialphase der Äquilibration der EMK des IPSP mit dem RP beobachtet. Unter Glucoseinfusion findet sich nur eine minimale Änderung der RPs und APs. Die Rückbildung des E_{IPSP} erfolgt außerordentlich rasch mit Halbwertszeiten von 7 - 10 min. ($m = 9,2$ min.).

Na - Fluoracetat:

Die Ergebnisse (13 Motoneurone) repräsentieren Einzelversuche, da die durch Na-Fac erzielten Veränderungen der neuronalen Eigenschaften irreversibel sind.

Folgende Änderungen der neuronalen Potentiale wurden nach Na-Fac Applikation beobachtet:

1. Membranpotential.

Alle Motoneurone zeigten eine Depolarisation des RP um 1,5 - 8 mV innerhalb eines Zeitraumes von 10 - 30 min. nach Infusionsbeginn (Abb. 12). Dieser Potentialverlust bildete sich jedoch fast vollständig (Potentialänderung des RP 1 - 2 mV) innerhalb von 35 - 45 min. p.i. zurück. Kleine Fluktuationen des RP wurden häufig in enger zeitlicher Beziehung zur Reduktion der EMK des IPSP (s.u.) beobachtet.

2. Aktionspotential.

Die Amplituden der Aktionspotentiale zeigten Reduktionen in der Größenordnung von 3,5 - 8 mV, wobei der Zeitverlauf des Potentialverlustes sich eng an den der RP Potentialverminderung anlehnte (Abb. 12). Allerdings bildeten sich diese Potentialverluste nur sehr selten vollständig zurück. Heftige, kurzdauernde Entladungssalven wurden innerhalb von 60 - 110 min. (m = 87 min.) p.i. beobachtet (s.u.).

3. EPSP.

Die spontane, excitatorische synaptische Aktivität war erhöht; an den durch unerschwellige Reizung für APs hervorgerufenen homonymen EPSPs konnten innerhalb einer Beobachtungszeit bis zu 3 h p.i. keine wesentlichen Veränderungen beobachtet werden (Abb. 12).

Abb. 12: Zeitverlauf der Potentialänderungen eines Motoneurons
nach Infusion von 1 mg NaFAc / kg KW.

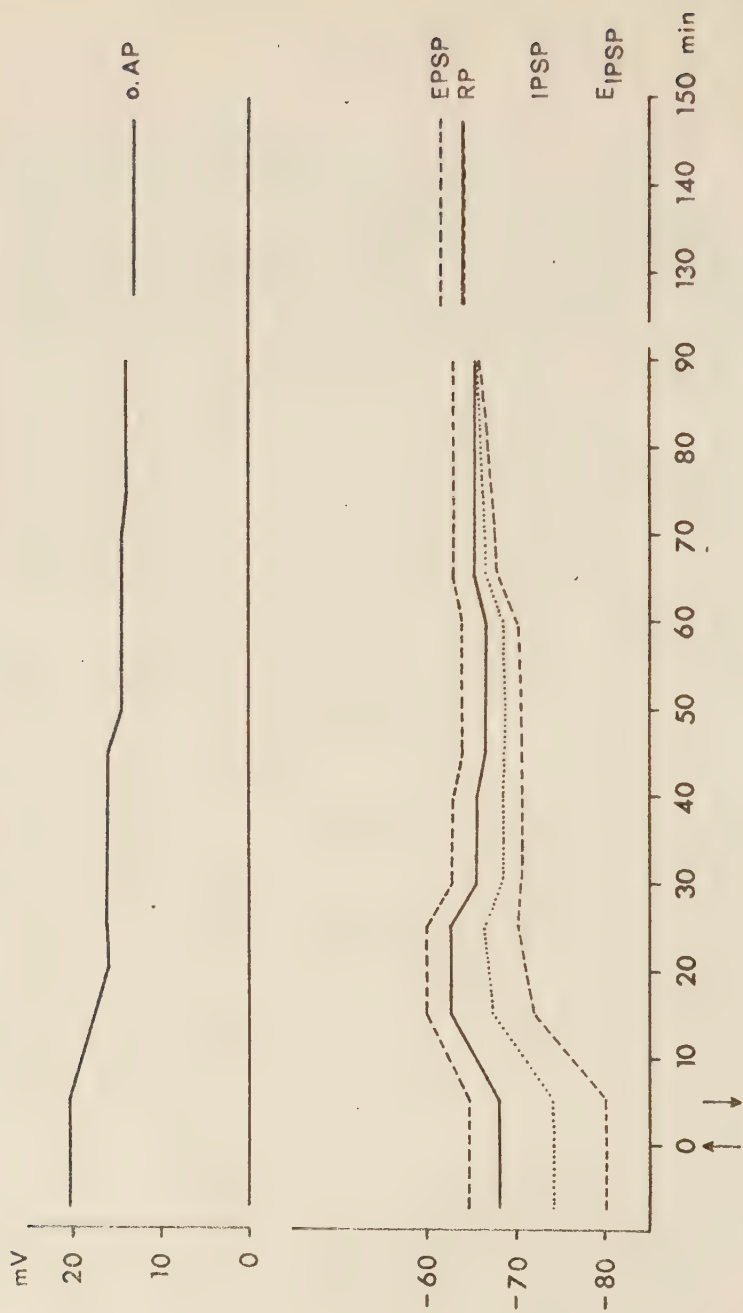


Abb.: 12

Abb. 13: Mittel- und Extremwerte des E_{IPSP} von 7 Motoneuronen während und nach Infusion von 1 mg NaFAc / kg KW. Die E_{IPSP} s sind von den entsprechenden Ruhepotentialen aus aufgetragen.

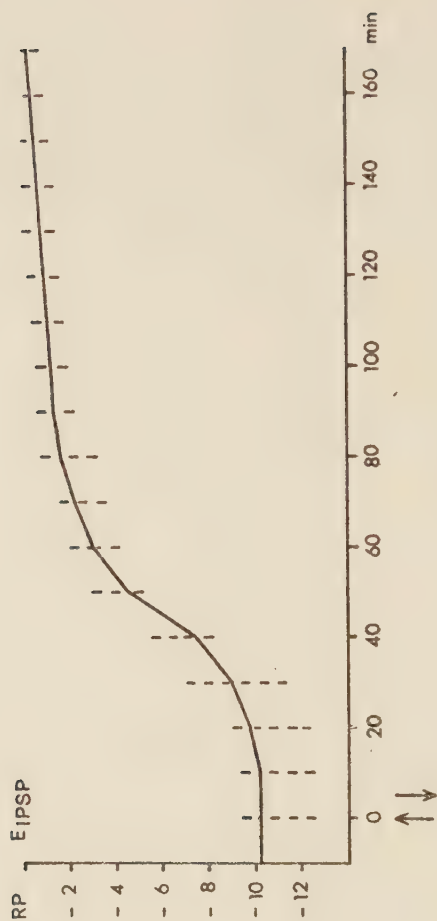


Abb.: 13

Abb. 14: Aktionspotentiale und Serie von IPSPs (bei verschiedenen Membranpotentialen) eines Motoneurons vor, 95 min. und 140 min. nach Infusion von NaFAC. Die Punkte deuten das jeweilige E_{IPSP} an.

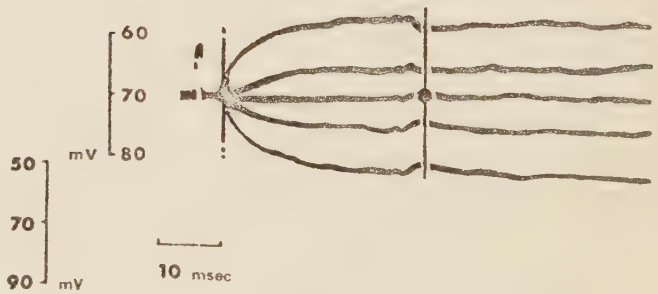
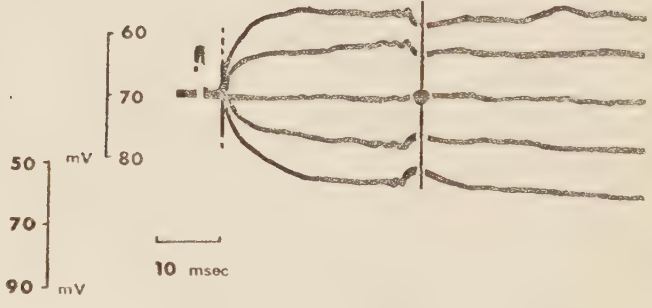
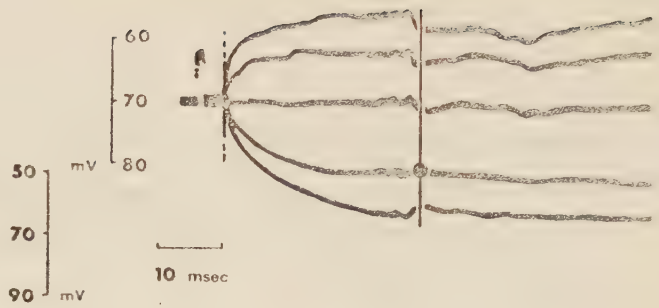
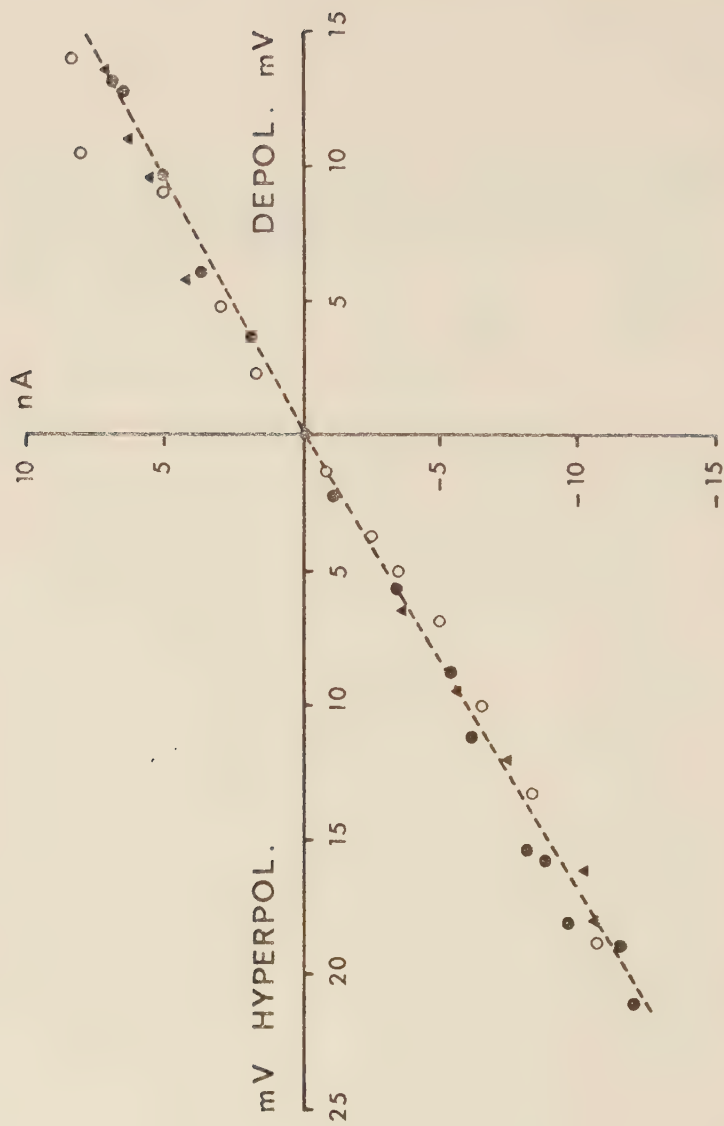


Abb.: 14

Abb. 15: Größe und Vorzeichen des IPSP als Funktion des jeweiligen Membranpotentials vor (●) 95 min. (○) und 140 min. (□) nach Infusion von NaFAc. Die Pfeile deuten das Ruhepotential der Zelle an.



Abb. 16: Strom-Spannungskennlinie eines Motoneurons vor (●),
95 min. (○) und 140 min. (▲) nach FAc Applikation.



4. IPSP und E_{IPSP} .

Eine beginnende Reduktion der Amplitude des IPSP bzw. der EMK des IPSP wurde innerhalb von 15 - 30 min. p.i. beobachtet (Abb. 12, 13). Innerhalb von 60 - 110 min. ($m = 87$ min.) p.i. wurde ohne eine einzige Ausnahme eine Verminderung der EMK des IPSP auf $< 15\%$ des Kontrollwertes erreicht (Abb. 13). Längere Beobachtungszeiten (bis zu 3.5 h) zeigten eine weitere langsame Reduktion des E_{IPSP} bis auf weniger als 5 % des Ausgangswertes (Abb. 13). Ähnlich den beiden anderen krampfinduzierenden Stoffwechseländerungen wurden also auch mit Na-FAC eine vollständige Angleichung des E_{IPSP} mit dem RP erreicht. Diese Angleichung war wieder durch spontane Entladung des Motoneurons gekennzeichnet. Das E_{IPSP} sowohl direkter wie polysynaptischer IPSPs zeigten annähernd Äquilibration mit dem RP (Abb. 12, 13, 14). Der nahezu parallele Verlauf der zum Zeitpunkt 90 min. p.i. ermittelten Kurve mit der Kontrollkurve im IPSP/MP Diagramm läßt keine Änderung der Wirksamkeit des IPSP erkennen, jedoch eine deutliche depolarisierende Verschiebung des E_{IPSP} (Abb. 15). Eine zunehmende Verminderung der Wirksamkeit des IPSP wird jedoch ≥ 120 min. p.i. beobachtet. Die Kurve der 150 min. Werte zeigt eine erheblich geringere Steigung als die der 90 min. Kurve, während nur eine minimale bzw. keine weitere depolarisierende Verschiebung des E_{IPSP} zu beobachten ist (Abb. 15). Die unveränderte Strom-Spannungsscharakteristik der Zelle (Abb. 16) macht eine Änderung der Eigenschaften der Nervenzellmembran als Ursache dieser Wirksamkeitsverminderung des IPSP unwahrscheinlich. Na-FAC vermindert offensichtlich neben der EMK des IPSP nach längerer Einwirkungsdauer noch zusätzlich die Wirksamkeit inhibitorischer Mechanismen durch einen präsynaptischen Angriffspunkt. Dies wurde an 3 Zellen beobachtet; die anderen gingen aufgrund der langen Versuchsdauer verloren.

Zusammenfassung:

Na-FAC Applikation führt initial zu reversiblen Verminderungen des RP sowie zu Reduktionen der Amplitude der Aktionspotentiale von 5 - 8 mV. Die EPSPs erscheinen auch während langer Beobachtungszeiten nicht wesentlich verändert. Die EMK des IPSP zeigt innerhalb von 90 - 110 min. p.i. eine Reduktion auf weniger als 15 % des Ausgangswertes, dem sich eine weitere langsame Verminderung bis auf weniger als 10 % des Kontrollwertes anschließt. Spontane Entladungsalven werden vor allem in diesem Intervall beobachtet. Längere Na-FAC Wirkung (> 110 min.) vermindert zusätzlich in zunehmendem Maße die Wirksamkeit des IPSP durch eine wahrscheinlich praesynaptisch bedingte Störung inhibitorischer Funktionen. Die Effekte auf das IPSP sind innerhalb des Beobachtungszeitraumes der Experimente irreversibel.

VI. Diskussion.

Depolarisierende Veränderungen der Membranruhepotentiale sowie der Amplitude der Aktionspotentiale wurden bei allen hier untersuchten Convulsionen erzeugenden Bedingungen beobachtet. Sie unterscheiden sich jedoch sowohl in ihrer Genese als auch in ihrem Zeitverlauf von den am IPSP beobachteten Veränderungen. Alterationen des RP und AP bei NH_4Ac , Hypoglycaemie und FAc treten frühzeitig auf (1 - 2 min., 5 - 15 min. bzw. 10 - 20 min. p.i.) und bilden sich in Zeitintervallen zurück (10 - 20 min., 30 - 40 min., 35 - 45 min. p.i.), in denen noch keine volle Äquilibration des E_{IPSP} mit dem Membranruhepotential zu beobachten ist (25 - 30 min., 40 - 65 min., 90 - 110 min. p.i.). Durch Bewegung der intracellulären Ableitelektrode können die Änderungen des RP und AP minimiert werden. Sie sind also wahrscheinlich Experimentalartefakte und haben somit keine pathogenetische Bedeutung bei den hier untersuchten Krampfständen.

Im Gegensatz zu den am MP und AP beobachteten Potentialänderungen sind die am Gleichgewichtspotential des IPSP beobachteten Veränderungen (die synchron damit ablaufenden Alterationen der Amplitude des IPSP sind lediglich Ausdruck dieser Veränderung) spezifischer Genese. Durch den von MP- und AP-Änderungen verschiedenen Zeitverlauf sowie durch die Unbeeinflussbarkeit durch kleine Veränderungen der Elektrodenposition wird dies gezeigt. Mit jeweils für das einzelne Krampfgift charakteristischen Zeitwerten (NH_4Ac 25 - 30 min., Hypoglycaemie 40 - 65 min. FAc 90 - 110 min. p.i.) wird eine Reduktion der EMK des IPSP bis auf weniger als 15 % des Kontrollwertes erreicht (was funktionell einer erheblichen Verminderung

inhibitorischer Aktivität gleichzusetzen ist, da $E_{IPSP} = RP$). In dieser depolarisierenden Verschiebung des E_{IPSP} ist der eigentliche spezifische, möglicherweise Convulsionen provozierende Effekt dieser Stoffwechselalterationen zu sehen.

Folgende Beobachtungen weisen darauf hin:

1. Fluktuationen des Membranruhepotentials, verursacht durch erhöhte Frequenz der excitatorischen synaptischen Aktivität (das evozierte EPSP zeigt keine Veränderung) werden nur zu Zeitpunkten beobachtet, zu denen die EMK des IPSPs bereits beträchtlich reduziert ist.
2. Ein gleiches gilt für spontan auftretende Entladungsalven der Motoneurone, die jedoch nur sporadisch beobachtet werden. Da in ihnen das auf intracellulärer Ebene beobachtbare Krampfäquivalent zu sehen ist, ergibt sich eine sehr gute Übereinstimmung mit den von anderen Autoren bis zum Auftreten von Krämpfen beschriebenen Latenzphasen für NH_4Ac und FAc (10 - 15 min. entsprechend der Infusionsgeschwindigkeit für NH_4Ac , 60 - 88 min. für FAc) (Tews, J.K. et W.E. Stone 1965).
3. Durch Hypoglycaemie inducierte Verminderungen der EMK des IPSP bilden sich rasch nach Glucosegabe vollständig zurück ($t_{1/2} = 7 - 10$ min.) was die hohe Wirksamkeit von Glucosegabe bei hypoglycämischen Kramp fzuständen erklären würde.

Krampfstände können durch Interferenz von Krampfgiften mit inhibitorischen Prozessen entstehen. Dies zeigt die stark convulsive Wirkung Inhibition blockierender Gifte wie Strychnin und Bicucullin (Curtis, D.R. et al. 1970). In vitro Versuche an Hippocampusgewebe, dem bei der Entstehung epileptischer Krämpfe eine Schlüsselstellung zugeschrieben wird, zeigen außerdem, daß nach Verminderung des Cl^- im Inkubationsmedium hemmpotentiale verschwinden und an Stelle dessen langdauernde, spontane Entladungssalven auftreten (Yamamoto, C. et N. Kawai 1967). Da nur das E_{IPSP} eine starke Abhängigkeit vom Cl^-_a / Cl^-_i Gradienten zeigt (Eccles, J.C. 1968, 1969; Motokizawa, F. et al. 1969), läßt sich möglicherweise das Auftreten der Entladungssalven durch eine Disinhibition erklären, die durch die depolarisierende Verschiebung des E_{IPSP} verursacht ist. Excitatorische Mechanismen sind ausschließlich kationensensitiv.

Falls man keine grundsätzlich verschiedene Genese und Reaktivität des IPSP am Motoneuron und dem IPSP anderer zentralnervöser Strukturen annimmt (Eccles, J.C. 1968, 1969), ist die gleiche depolarisierende Verschiebung des E_{IPSP} , die am Motoneuron unter NH_4Ac , Hypoglycaemie und FAc beobachtet wurde, auch für diese Systeme anzunehmen. Folglich wird durch den disinhibitorischen Effekt der untersuchten Stoffwechselsituationen ein erheblich verstärkter excitatorischer Input übergeordneter Zentren, der evtl. bis zur Auslösung von Krämpfen führen könnte, am Motoneuron ermöglicht, was auch tatsächlich beobachtet wird.

In den hier untersuchten Krampfmodellen kann also die Reduktion der EMK des IPSP den entscheidenden Auslösmechanismus der Krampf-

aktivität darstellen. Hohe cerebrale NH_3 Spiegel ($1.2 - 2.8 \mu\text{M/g}$ gegenüber $0.25 \mu\text{M/g}$ Kontrolle) kennzeichnen diese drei metabolisch induzierten Krampfmodelle (Tews, J.K. et W.E. Stone 1965). Die depolarisierende Verschiebung des E_{IPSP} durch NH_4 ist andererseits klar demonstriert (Lux, H.D. et P. Schubert 1969). Möglicherweise ist die Reduktion der EMK des IPSP in den beschriebenen Modellen durch NH_3 bedingt, was folgende Befunde nahelegen:

1. Die unter NH_4Ac , das ausgesprochen stark und rasch auf das E_{IPSP} wirkt, erreichten maximalen cerebralen NH_3 Spiegel ($1.2 - 3.8 \mu\text{M/g}$) werden sowohl bei Hypoglycaemie ($2.5 \mu\text{M/g}$) als auch bei Intoxikation mit FAc ($1.2 - 2.0 \mu\text{M/g}$) erreicht (Tews, J.K. et W.E. Stone 1965).

2. Der einzige zum gegenwärtigen Zeitpunkt bekannte Metabolit mit reduktiver Wirkung auf die EMK des IPSP, der konstant sowohl praeconvulsiv wie im Convulsivstadium bei sämtlichen Modellsituationen erhöht ist, ist NH_3 (Tews, J.K. et W.E. Stone 1965; Folbergrova J. et al. 1969).

3. Die Rückbildung der cerebralen Ammoniakspiegel nach NH_4 Salzzufuhr ($t_{1/2} = 22 - 23 \text{ min.}$) (Warren, K.S. et D.G. Nathan 1958) stimmt gut mit der Rückbildung des E_{IPSP} ($t_{1/2} = 15 - 20 \text{ min.}$) nach NH_4Ac Zufuhr überein.

4. Nach Glucosegabe bilden sich die durch Hypoglycaemie erhöhten cerebralen NH_3 Spiegel innerhalb von 15 min. zurück (Tews, J.K. et al. 1965), was ebenfalls in guter zeitlicher Übereinstimmung mit der beobachteten Rückbildung des E_{IPSP} nach Glucosegabe bei Hypoglycaemie stent (20 min.).

Die Existenz eines gegenüber Alterationen des neuronalen Stoffwechsels sehr sensitiven excitationssynchronen NH_3 -Freisetzungs-/Bindungsmechanismus (siehe III.), der cerebrale Ursprung der erhöhten NH_3 -Spiegel bei Hypoglycämie und FAC Vergiftung sowie die in jedem der untersuchten Modelle beobachtete depolarisierende Verschiebung des E_{IPSP} legen nahe, eine einheitliche Theorie metabolisch bedingter zentralnervöser Krampfanfälle zu formulieren: Unterschiedlichste Störungen des neuronalen Intermediärstoffwechsels führen durch Interferenz mit dem NH_3 -Bindungsmechanismus zu Erhöhungen der cerebralen NH_3 -Spiegel. Diese erzeugen durch ihren disinhibitorischen Effekt eine verstärkte Excitation, die ihrerseits wiederum über eine verstärkte NH_3 -Freisetzung die Reduktion der EMK der postsynaptischen Hemmung fördert. So kommt ein regenerativer Prozeß in Gang, der möglicherweise schließlich zum Krampfanfall führt und auch für dessen Fortdauer verantwortlich ist.

Der letztere Mechanismus wird durch Experimente wahrscheinlich gemacht, bei denen durch topische Applikation von Strychnin am Cortex (Strychnin scheint im Gegensatz zum RM am Cortex eine unmittelbare, excitatorische Wirkung zu entfalten (Esplin, D.W. et B. Zablocka-Esplin 1969)) Krämpfe ausgelöst wurden. Es wurde gezeigt, daß nach kurzer Krampfzeit bei vielen Zellen eine depolarisierende Verschiebung des IPSP eintritt (Pollen, D.A. et H.D. Lux 1966). In diesem Modell wird die primäre Krampfaktivität durch erhöhte Excitation hervorgerufen, es zeigt sich jedoch, daß die durch excessive neuronale Aktivität erhöhten NH_3 -Spiegel durchaus ausreichen können, um eine erhebliche Reduktion der EMK des IPSP

zu erzeugen. Dies kann einen wesentlichen Faktor für die Fortdauer und Ausbreitung der Krampfaktivität darstellen.

Was nun der Mechanismus der Ammoniumwirkung anbetrifft, so werden durch Iontophoreseexperimente zwei Alternativen aufgezeigt (Lux, H.D. et al. 1970):

1. Das IPSP ist durch einen, durch aktiven Transport aufrechterhaltenen Cl^- Gradienten bestimmt, der normalerweise ein negativeres Potential aufweist als das Ruhepotential. Ammonium würde dann durch Blockade einer zellauswärts gerichteten Cl^- Pumpe diese Diffusionsasymmetrie beseitigen.
2. Das IPSP ist durch die elektrochemischen Gradienten von K^+ und Cl^- bedingt. Ammonium würde dann die Cl^- Leitfähigkeit auf Kosten der K^+ Leitfähigkeit erhöhen, wobei das Cl^- Potential dem Membranruhepotential, das K^+ Potential negativeren Werten entspricht.

Klinische Aspekte:

Einige, zum Teil erst in jüngster Zeit beschriebene congenitale Enzymdefekte des AA-Stoffwechsels zeigen klar die Bedeutung von NH_3 für die Genese von Convulsionen (Bruton, C.J. et al. 1970; Lewis, P.O. et A.L. Miller 1970; Terheggen, H.G. et al. 1970). Vor allem die Störungen des cerebralen Ornithincyclus, dem offensichtlich eine besondere, wenn auch zum gegenwärtigen Zeitpunkt nicht näher definierbare Rolle im NPN Stoffwechsel zukommt (Davtian, M.A. et H.Ch. Buniatian 1966), machen diese Beziehung deutlich, da jedes der Krankheitsbilder sowohl mit Convulsionen als auch mit erhöhten NH_3 -Spiegeln einhergeht (Bruton, C.J. et al. 1970; Lewis, P.O. et A.L. Miller 1970; Terheggen, H.G. et al. 1970). Andererseits

wurden gerade bei Epileptikern (vor allem Petit Mal) prärenal bedingt hyperaminoacidurien unterschiedlicher Aminosäure Spektren beobachtet, deren Ursache nicht abgeklärt werden konnte (Millichap, J.G. 1969). Eine ganze Reihe von verschiedenen Störungen des AA Stoffwechsels (die sehr leicht zu Störungen des NH_3 -Metabolismus führen) wird hier durch den Krampfanfall als einheitliches Krankheitsbild gesehen. Ein Befund der die hohe Krampfanfälligkeit von Neugeborenen erklären könnte, stellt der Nachweis von gegenüber den Adulten wesentlich höheren cerebralen NH_3 -Spiegeln ($0.4 \mu\text{M/g}$ gegenüber $0.25 \mu\text{M/g}$ dar (Oja, S.S. et al. 1966). Interessant in diesem Zusammenhang ist die Beobachtung, daß eine chronische subconvulsive Erhöhung der cerebralen NH_3 -Spiegel offensichtlich einen ausgesprochenen Proliferationsreiz für Gliazellen, besonders für die der Temporallappenregion darstellen (Lewis, P.O. et A.L. Miller 1970). Gliosen werden andererseits sehr regelmäßig bei Epileptikern gefunden. Die Seltenheit von Krämpfen beim Leberkoma (trotz erheblicher Excitation, "flapping tremor"), das sehr hohe NH_3 -Spiegel aufweist, scheint seine Erklärung durch die dabei auftretenden Störungen des K^+ Haushaltes zu finden, welchem für die Erregbarkeit zentralnervöser Strukturen eine Schlüsselrolle zukommt (Eccles, J.C. 1964, 1969; Schmid, M. 1970).. (Sowohl RP als auch EPSP und Verlauf des AP zeigen eine ausgesprochene Abhängigkeit vom K^+ Gradienten).

Die dargestellten Experimente zeigen, daß die durch unterschiedliche Alterationen des Gehirnstoffwechsels erzeugten Anstiege der Ammoniakkonzentration ausreichen können, um eine durch NH_3 verur-

sachte Äquilibration des E_{IPSP} mit dem RP der Nervenzelle zu erreichen. Die funktionell als erhebliche Verminderung inhibitorischer Mechanismen imponierende Reduktion der EMK des IPSP führt möglicherweise ihrerseits zur Auslösung von Krampfaktivität. Ammoniak kann demnach aufgrund seiner Wirkung am E_{IPSP} den gemeinsamen, terminalen, zum Krampfanfall führenden Metabolit darstellen. Die Vielfalt möglicher Convulsivbedingungen würde dann ihre Erklärung in der durch Störungen des cerebralen Metabolismus erhöhten Ammoniakkonzentration finden.

Zusammenfassung:

Die durch Krampfgifte erzeugten Potentialveränderungen lumbaler Motoneurone der Katze wurden mit Hilfe von intracellulär placierten Elektroden registriert. Gemessen wurden: Membranruhepotential (KP), Aktionspotential (AP), excitatorisches postsynaptisches Potential (EPSP), Schwelle des EPSP, inhibitorisches postsynaptisches Potential (IPSP), Gleichgewichtspotential des IPSP (E_{IPSP}), Abhängigkeit der Amplitude des IPSP vom Membranpotential und der Membranwiderstand des Neurons. Krampfanfälle wurden durch Insulin inducierte Hypoglycaemie, Intoxikation mit Ammoniumacetat und Na-Fluoracetat provoziert.

In jedem der drei gewählten Krampfmodelle zeigte sich eine, mit einem für das einzelne Krampfgift charakteristischen Zeitverlauf, depolarisierende Verschiebung des E_{IPSP} bis zur Äquilibrierung mit dem Membranruhepotential. Reduktionen der EMK des IPSP auf weniger als 15 % des Kontrollwertes werden von spontanen Entladungssalven des Motoneurons begleitet. Deutliche Änderungen der Membranruhepotentiale, der EPSPs und der Aktionspotentiale konnten nicht beobachtet werden. Dem irreversiblen Effekt von Fluoracetat steht die "spontane" Reversibilität der Veränderungen durch Ammoniumacetat sowie die Reversibilität hypoglycaemischer Änderungen durch Glucosegabe gegenüber. Als Langzeiteffekt von Fluoracetat wird eine Verminderung der inhibitorischen, synaptischen Wirksamkeit beobachtet. Die Bedeutung von Ammoniak als gemeinsamen Mediator der Reduktion der EMK des IPSP und die damit verbundene evtl. zentrale Stellung von NH_3 im zentralnervösen Krampfgeschehen werden diskutiert.

- ARAKI, T., J.C. ECCLES, K. ITO: Correlation of the inhibitory post-synaptic potential of motoneurons with the latency and time course of inhibition of monosynaptic reflexes.
J. Physiol. 154, 354 (1960)
- BENTLEY, D., J.R. PSCHLIDT, W.E. STONE: Formation of ammonium ion in the cerebrum in fluoacetate poisoning.
Amer. J. Physiol. 176, 466 (1954)
- BERL, S., G. TAKAGAKI, D.D. CLARKE, H. WAELSCH: Carbon dioxide fixation in brain.
J. biol. Chem. 237, 2570 (1962)
- BERL, S., G. TAKAGAKI, D.D. CLARKE, H. WAELSCH: Metabolic compartments in vivo. NH_4 and glutamic acid metabolism in brain and liver.
J. biol. Chem. 237, 2562 (1962)
- BERL, S., D.D. CLARKE, W.J. NICKLAS: Compartmentation of citric acid cycle metabolism in brain: Effect of amino-oxyacetic acid, ouabain and Ca on the labelling of glutamate, glutamine, aspartate and GABA by ^{14}C acetate, U^{14}C glutamate and U^{14}C aspartate.
J. Neurochem. 17, 999 (1970)
- BERL, S., W.J. NICKLAS, D.D. CLARKE: Compartmentation of citric acid cycle metabolism in brain: Labelling of glutamate, glutamine, aspartate and GABA by several radioactive tracer metabolites.
J. Neurochem. 17, 1009 (1970)
- BESSMAN, S.P., A.N. BESSMAN: The cerebral and peripheral uptake of ammonia in liver disease with an hypothesis for the mechanism of hepatic coma.
J. Clin. Invest. 34, 622 (1955)

- BLATTNER, R.J.: Central nervous system damage and hypoglycemia.
J. Paediatr. 72, 904 (1966)
- BRUTON, C.J., J.A.S. CORSELLIS, A. RUSSELL: Hereditary hyperammonaemia.
Brain 93 II, 423 (1970)
- BURGEN, A.S.V., F.C. MacINTOSH: The physiological significance of acetylcholine. In: K.A.C. Elliot Ed. Neurochemistry.
Springfield: Charles, C. Thomas 1955
- CHAVANY, J.: Epilepsie.
Paris: Masson 1958
- CREUTZFELDT, O.D., J.J. MEISCH: Changes of cortical neuronal activity and EEG during hypoglycemia.
Electroenceph. clin. Neurophysiol. 24, 158 (1963)
- CURTIS, D.R., A.W. DUGGAN, D. FELIX, G.A.R. JOHNSTON: GABA, bicuculline and central inhibition.
Nature 226, 1222 (1970)
- DAVTIAN, M.A., H.Ch. BUNIATIAN: Urea synthesis in brain.
J. Neurochem. 13, 743 (1966)
- ECCLES, J.C.: The Physiology of the Synapses.
Berlin: Springer 1964
- ECCLES, J.C.: Postsynaptic inhibition in the central nervous system.
In: Structure and Function of Inhibitory Neuronal Mechanismus.
Oxford: C. van Euler et al. Ed. Pergamon Press 1968
- ECCLES, J.C.: Excitatory and inhibitory mechanisms in brain.
In: H.H. Jasper Ed. Basic Mechanisms of the Epilepsies.
Boston: Little, Brown and Company 1969

- ESPLIN, D.W., B. ZABLOCKA-ESPLIN: Mechanisms of action of convulsants. In: H.H. Jasper Ed. Basic Mechanisms of the Epilepsies.
Boston: Little, Brown and Company 1969
- FOLBERGROVA, J., J.V. PASSONNEAU, O.H. LOWRY, D.W. SCHULZ: Glycogen ammonia and related metabolites in the brain during seizures evoked by methionine sulfoximine.
- FRANK, K., M.G.F. FUORTES: Excitation and conduction.
Ann. Rev. Physiol. 23, 357 (1961)
- GASTAUT, H., J. SAIER, T. MANO, D. SANTOS, S. LYAGOUBI: Generalized epileptic seizures induced by nonconvulsant substances: Experimental study with special reference to ammonium chloride.
Epilepsia 9, 317 (1968 a)
- GASTAUT, H., S. LYAGOUBI, E. MESDILAN, J. SAIER, S. OUANCHI: Generalized epileptic seizures induced by nonconvulsant substances: Special reference to insulin.
Epilepsia 9, 311 (1968 b)
- GIBBS, E.L., H. DAVIS, W.G. LENNOX: The electroencephalogram in epilepsy and in conditions of impaired consciousness.
Arch. Neurol. Psychiat. 34, 1133 (1935)
- GOLDBERG, N.D., J.V. PASSONNEAU, O.H. LOWRY: Effects of changes in brain metabolism on the levels of citric acid cycle intermediates.
J. biol. Chem. 241, 3997 (1966)
- ITO, M., M. YOSHIDA: The cerebellar evoked monosynaptic inhibition of Deiters neurones.
Experientia 20, 515 (1964)

- KING, L.J., O.H. LOWRY, J.V. PASCONNEAU, V. VENSON: Effect of convulsants on energy reserves in the cerebral cortex.
J. Neurochem. 14, 599 (1967)
- LAHIRI, S., J.H. QUASTEL: Fluoracetate and metabolism of ammonia in the brain.
Biochem. J. 89, 157 (1963)
- LETTVIN, J.Y., B. HOWLAND, R.C. GESTELAND: Footnotes on a headstage. Ire Transactions on Medical Electronics 10, 26 (1958)
- LEWIS, P.O., A.L. MILLER: Argininosuccinic aciduria. Case report with neuropathological findings.
Brain 93 II, 413 (1970)
- LUX, H.D., P. SCHUBERT: Postsynaptic inhibition: Intracellular effects of various ions in spinal motoneurons.
Science 166, 625 (1969)
- LUX, H.D., C. LORACHER, E. NEHER: The Action of Ammonium on Postsynaptic Inhibition of Cat Spinal Motoneurons.
Exp. Brain Res. 11, 431 (1970)
- Mc ILWAIN, H.: Cerebral energy metabolism and membrane phenomena. In: H.H. Jasper Ed. Basic Mechanisms of the Epilepsies. Boston: Little, Brown and Company 1969
- Mc ILWAIN, H.: Metabolic adaptation in the brain.
Nature 226, 803 (1970)
- MERGENHAGEN, D., O.D. CREUTZFELDT, G. NEUWEILER: Beziehung zwischen Aktivität corticaler Neurone und EEG-Wellen im motorischen Cortex der Katze bei Hypoglycaemie.
Arch. Psychiat. und Zeitschr. f. d. ges. Neurol. 211, 43 (1968)
- MILLICHAP, J.G.: Systemic electrolyte and neuroendocrine mechanisms. In: H.H. Jasper Ed. Basic Mechanisms of the Epilepsies. Boston: Little, Brown and Company 1969

- MOTOKIZAWA, F., J.P. REUBEN, H. GRUNDFEST: Ionic permeability of lobster muscle fibers.
J. gen. Physiol. 54, 437 (1969)
- OJA, S.S., H.A.R. von BONSDORFF, O.F.C. LINDROSS: Ammonia content in the developping rat brain.
Nature 212, 937 (1966)
- PASSONNEAU, J.V.: Discussion: Energy metabolites in experimental seizures. In: H.H. Jaspers Ed. Basic Mechanisms of the Epilepsies.
Boston: Little, Brown and Company 1969
- PETERS, R.A.: Mechanism of the toxicity of the active constituent of Dichapetalum cymosum and related compounds.
Adv. Encym. 18, 113 (1957)
- PETERS, E.L., D.B. TOWER: Glutamic acid and glutamine metabolism in cerebral cortex after seizures induced by methionine sulfoximine.
J. Neurochem. 5, 80 (1959)
- POLLEN, D.A., H.D. LUX: Conductance changes during inhibitory post-synaptic potentials in normal and strychninized cortical neurons.
J. Neurophysiol. 29, 367 (1966)
- ROBERTS, E., E. EIDELBERG: Metabolic and neurophysiological roles of g aminobutyric acid.
Int. Rev. Neurobiol. 2, 279 (1960)
- ROPER, S., J. DIAMOND: Does strychnine block inhibition postsynaptically?
Nature 223, 1168 (1969)
- SCHMID, M.: Leber. In: Klinische Pathophysiologie.
Stuttgart: W. Siegenthaler, Ed. Georg Thieme Verlag 1970

- SCHWAB, R.S.: Aktivationsmethoden des Elektroencephalogramms.
In: Kugler, J., Elektroencephalographie in Klinik und Praxis.
Stuttgart: Georg Thieme Verlag 1966
- SELLINGER, O.Z., J.M. AZCURRA, WAYNE, OHLSON: MSO seizures: The dissociation of the convulsant and glutaminedeaminohydrolase inhibitory effects.
J. Pharm. Exper. Therap. 164, 212 (1968)
- SHAW, R.K., J.D. HEINE: Effect of insulin of nitrous constituents of rat brain.
J. Neurochem. 12, 527 (1965)
- SPENCER, W.A., E.R. KANDEL: Synaptic inhibition in seizures.
In: H.H. Jasper Ed. Basic Mechanisms of the Epilepsies.
Boston: Little, Brown and Company 1969
- STONE, W.E., J.E. WEBSTER, E.S. GURDJIAN: Chemical changes in cerebral cortex associated with convulsive activity.
J. Neurophysiol. 8, 233 (1945)
- STONE, W.E., J.K. TEWS, E.N. MITCHELL: Chemical concomitants of convulsive activity in the cerebrum.
Neurology 10, 241 (1960)
- STONE, W.E., J.K. TEWS, S.H. CARTER: Chemical changes in the brain during insulin hypoglycemia and recovery.
Physiologist 5, 218 (1962)
- STONE, W.E.: Discussion: Action of convulsants: Neurochemical aspects. In: H.H. Jasper Ed. Basic Mechanisms of the Epilepsies.
Boston: Little, Brown and Company 1969
- TERHEGGEN, H.G., A. LOWENTHAL, J.P. COLOMBO: Hyperargininaemie bei Arginase-mangel.
Fortschr. Med. 88, 797 (1970)

- TEWS, J.K., S.H. CARTER, P.D. ROA, W.E. STONE: Free amino acids and related compounds in dog brain: Post mortem and anoxic changes, effects of ammonium chloride infusion and levels during seizures induced by picrotoxin and by pentylenetetrazol.
J. Neurochem. 10, 641 (1963)
- TEWS, J.K., S.H. CARTER, W.E. STONE: Chemical changes in brain during insulin hypoglycemia and recovery.
J. Neurochem. 12, 679 (1965)
- TEWS, J.K., W.E. STONE: Free amino acids and related compounds in brain and other tissues: Effects of convulsant drugs.
In: Progress in Brain Research Vol. 16, p. 135 (1965)
- TOWER, D.B.: Neurochemistry of Epilepsy.
Springfield: Charles C. Thomas 1960
- TOWER, D.B.: Interrelationships of oxidative and nitrogen metabolism with cellular nutrition and function in the central nervous system.
Amer. J. clin. Nutr. 12, 308 (1963)
- TRENDELENBURG, P.: Ammoniak und Ammoniaksalze.
In: A. Heefter Ed. Handbuch der experimentellen Pharmakologie Vol. 1 Berlin. Springer 1960
- VAN DEN BERG, C.J., L.J. KRZALIC, P. MELA, H. WAELSCH: Compartmentation of glutamate metabolism in brain.
Biochem. J. 113, 281 (1969)
- VAN METER, W.G., H.F. OWENS, H.E. HIMWICH: Cortical and rhinencephalic electric potentials during hypoglycemia.
A.M.A. Arch. Neurol. Psychiat. 80, 314 (1958)
- VRBA, R.: A source of ammonia and changes in protein structure in rat brain during physical exertion.
Nature 176, 117 (1955)

- VRBA, R., J. FOLBERGROVA, V. KANTUREK: On the mechanism of ammonia formation in guinea pig brain slices.
J. Neurochem. 2, 187 (1958)
- VRBA, R., J. FOLBERGROVA: Observations on endogenous metabolism in brain in vitro and in vivo.
J. Neurochem. 4, 338 (1959)
- WARREN, K.S., D.G. NATHAN: The passage of ammonia across the blood brain barrier and its relation to blood pH.
J. clin. Invest. 37, 1724 (1958)
- WEIL-MALHERBE, H., R.H. GREENE: Ammonia formation in brain I. Studies on slices and suspensions.
Biochem. J. 61, 210 (1955)
- WEIL-MALHERBE, H., A.L. DRYSDALE: Ammonia formation in the brain III The role of protein amide groups and hexosamines.
J. Neurochem. 1, 250 (1957)
- WERNER, R.: Inhibitory postsynaptic potentials recorded from sacral ventral roots of cats.
Fed. Proc. 21 A, 296 b (1962)
- WHERRET, J.R. et D.B. TOWER: In: Interrelationships of oxidative and nitrogen metabolism with cellular nutrition and function in the central nervous system.
Amer. J. clin. Invest. 12, 308 (1963)
- YAMAMOTO, C., N. KAWAI: Seizure discharge evoked in vitro in thin sections from guinea pig hippocampus.
Science 155, 341 (1967)

Lebenslauf

Am 4.11.1944 wurde ich in Krumbach/Schw. als Sohn des Arztes C. Loracher und seiner Frau Emma geboren. Nach vierjährigem Besuch der Volksschule Kirchheim/Schw. trat ich 1954 in das Maristenkolleg Mindelheim/Schw. ein, wo ich 1963 die Reifeprüfung ablegte. 1963 erfolgte die Immatrikulation an der Med. Fakultät der Universität München, wo ich mich 1964 und 1966 der naturwissenschaftlichen bzw. der ärztlichen Vorprüfung unterzog. 1969 legte ich an der gleichen Fakultät das medizinische Staatsexamen ab. Der Aufenthalt am Max-Planck-Institut für Psychiatrie 1969/1970 ermöglichte mir die Ausführung meiner Promotionsarbeit.

